FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGIA.

ESCUELA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS.

"Desarrollo de una mezcla de conservantes para su aplicación en longaniza, con el fin de aumentar el tiempo de vida útil del producto elaborado por la empresa ITALIMENTOS Cia Ltda."

Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:

INGENIERO EN ALIMENTOS

Autor:

CRISTIAN FERNANDO GARCIA VINTIMILLA

Director:

PIERCOSIMO TRIPALDI CAPPELLETTI.

CUENCA-ECUADOR

2015

DEDICATORIA.

Dedico esta obra a quienes hacen que mi vida tenga sentido: a mis padres Manuel García (+) y Vilma Vintimilla por su incondicional ayuda, su carisma, gran amistad y apoyo en la realización de una de mis metas alcanzadas en la vida.

AGRADECIMIENTO.

A la Universidad del Azuay por su apoyo en la realización de esta obra, a mis profesores, en especial al Dr. Piercosimo Tripaldi Cappelletti por su dirección, apoyo y conocimientos brindados.

Al Sr. Lautaro Jetón Suscal Presidente y propietario de ITALALIMENTOS Cia Ltda, por permitirme realizar mi trabajo de graduación en su empresa

Al ing. Javier Moscoso por su guía incondicional en la realización de mi tesis.

INDICE DE CONTENIDOS.

DEDICATORIA. ..... **ii**
AGRADECIMIENTO. ..... **iii**
INDICE DE TABLAS. ..... **vii**
INDICE DE FIGURAS. ..... **ix**
INDICE DE ANEXOS. ..... **x**
RESUMEN. ..... **xi**
ABSTRACT. ..... **xii**
INTRODUCCIÓN. **1**

CAPÍTULO 1. TIEMPO DE VIDA UTIL DE LOS ALIMENTOS. **3**

1.1 Conceptos y generalidades. 3
1.2 Tiempo de vida útil. 3
1.3. Factores que afectan la vida útil de los alimentos. 4
1.3.1 Temperatura. 4
1.3.2 Personal manipulador. 4
1.3.3 Procesamiento. 5
1.4 Microorganismos causantes del deterioro de los productos cárnicos. 5
1.4.1 *Escherichia coli.* 5
1.4.2 *Staphylococcus aureus.* 6
1.4.3 *Mesófilos aerobios.* 7

CAPÍTULO 2. SUSTANCIAS ORGANICAS QUE AYUDAN A LA CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS. **8**

2.1 Ácidos orgánicos. 8
2.2 Mecanismos de acción de los ácidos orgánicos. 8
2.3 Análisis sensorial. 9
2.3.1 Campos de aplicación del análisis sensorial. 10
2.3.2 Indicadores de pérdidas de atributos sensoriales. 10

CAPÍTULO 3. DISEÑO DE SUPERFICIES DE RESPUESTA Y SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS. 11

3.1 Diseños experimentales. 11
3.2 Clasificación de los diseños de experimentos. 12
3.2.1. Métodos comparativos. 12
3.2.2 Métodos de los efectos principales. 12
3.2.3 Métodos de superficie de respuesta. 12
3.2.4 Diseño de mezclas. 12
3.2.5 Modelos de regresión. 12
3.3 Selección de un diseño de experimentos. 13
3.4.1 Introducción. 13
3.4.2 Elementos de la MSR 14
3.4.3 Diseños de superficies de respuesta. 14
3.4.3.1 Diseños de primer orden. 14
3.4.3.2 Diseños de segundo orden. 15
3.5 Ácidos orgánicos. 16
3.5.1 Ácido láctico. 17
3.5.2 Ácido acético. 17
3.5.3 Ácido cítrico. 18

CAPÍTULO 4. MATERIALES Y METODOS. 19

4.1 Matriz de diseño box behenken. 19
4.2 Elaboración de la longaniza 21
4.2.1 Equipos. 21
4.2.2 Materia prima. 21
4.2.3 Aditivos. 21
4.2.4 Procedimiento para elaboración longaniza. 21
4.3 Determinación de la carga microbiana de la longaniza. 24
4.3.1 Equipos. 24
4.3.2 Materiales. 24
4.3.3 Reactivos. 25
4.3.4 Procedimiento para cuantificación de microorganismos. 25
4.4 Determinación carga microbiana de la optimización. 29
4.4.1 Equipos. 29
4.4.2 Materiales. 29

4.4.3 Reactivos. 30
4.4.4 Procedimiento para cuantificación de microorganismos. 30
4.4.5 Incubación, utilizando placas compact dry 30
4.4.6 Interpretación de resultados. 31
4.5 Análisis sensorial. 32
4.5.1 Presentación de la muestra. 32
4.5.2 Análisis de datos. 32

CAPÍTULO 5. ANÁLISIS DE RESULTADOS E INTERPRETACIÓN. 33

5.1 Diseño experimental. 33
5.2 Análisis microbiológico. 34
5.2.1 Resultados de los recuentos de *Coliformes totales y E. coli* en la longaniza. 34
5.2.2 Resultados de los recuentos de *Staphylococcus aureus* en la longaniza. 36
5.2.3 Resultados de los recuentos de *Mesófilos aerobios* en la longaniza. 37
5.3 Análisis estadístico. 38
5.3.1 Determinación de los coeficientes regresión. 38
5.4 Análisis sensorial. 69
5.4.1 Determinación análisis de varianza. 74

CONCLUSIONES. 77
RECOMENDACIONES. 79
BIBLIOGRAFIA. 80
ANEXOS. 83

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1 Guía para la selección de experimentos. 13
Tabla 2 Matriz del diseño Box behenken para tres factores. 16
Tabla 3 de mi autoría: Matriz de estudio Box-Behenken. 19
Tabla 4 de mi autoría. Diluciones del análisis microbiológico. 27
Tabla 5 de mi autoría: Matriz de diseño Box-Behnken con las concentraciones de gramos de cada uno de los ácidos. 33
Tabla 6 de mi autoría: Resultados de los recuentos de *Coliformes totales y E. Coli*(UFC/g) realizados en la longaniza, ... 34
Tabla 7 de mi autoría: Resultados de los recuentos de *Staphylococcus aureus*(UFC/g) en la longaniza. 36
Tabla 8 de mi autoría Resultados de los recuentos de *Mesófilos Aerobios*(UFC/g) realizados en la longaniza. 37
Tabla 9 de mi autoría: Recuento *E. Coli* (UFC/g) en la longaniza. 39
Tabla 10 de mi autoría: Diferencia entre recuento de *E. Coli* y el máximo permitido por la NTE INEN 1 338 2012. 39
Tabla 11 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cero días. 40
Tabla 12 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cinco días. 43
Tabla 13 Regresión de superficies de respuesta con tiempo 10 días. 45
Tabla 14 Regresión de superficies de respuesta con tiempo quince días. 47
Tabla 15 Coeficientes de regresión estimados en un tiempo de cinco días. 49
Tabla 16 de mi autoría: Matriz de concentraciones optimas de optimización 1. 52
Tabla 17 de mi autoría: Recuento microbiológico optimización. 52
Tabla 18 de mi autoría: Recuento de *Mesófilos aerobios* (UFC/g) en la longaniza. 54
Tabla 19 de mi autoría: Matriz de recuento de *Mesófilos aerobios* con valores cero. 55
Tabla 20 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cero días. 56
Tabla 21 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cinco días. 58
Tabla 22 Regresión de superficies de respuesta con tiempo diez días. 60
Tabla 23 Regresión de superficies de respuesta con tiempo quince días. 62
Tabla 24 Coeficientes de regresión estimados en un tiempo de diez días. 64

Tabla 25 de mi autoría: Matriz de concentraciones optimas de optimización 2. 67
Tabla 26 de mi autoría: Recuento microbiológico optimización 2. 68
Tabla 27 de mi autoría: Resultados cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo cero días. 69
Tabla 28 Resultados de cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo cinco días. 71
Tabla 29 de mi autoría: Resultados de cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo diez días. 72
Tabla 30 de mi autoría: Resultados de cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo quince días. 73

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1 Representación del diseño Box-Behenken para tres factores. 16
Figura 2 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *E. Coli* vs tiempo. 51
Figura 3 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *E. Coli* vs tiempo de la optimización 1 53
Figura 4 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *Mesófilos aerobios* vs Tiempo de la optimización 1. 53
Figura 5 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *Mesófilos aerobios* vs tiempo. 66
Figura 6 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *Mesófilos aerobios* vs Tiempo en la optimización 2. 68
Figura 7 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *E. Coli* vs Tiempo en optimización 2. 69
Figura 8 Interpretación grafica análisis discriminante lineal. 75
Figura 9 Interpretación grafica análisis discriminante lineal validado. 76

INDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. Ficha técnica ácido cítrico. 84
Anexo 2. Ficha técnica ácido láctico..... 86
Anexo 3. Ficha técnica ácido acético. 89
Anexo 4. Norma técnica Ecuatoriana INEN 1 338:2012. 91
Anexo 5. Ficha de cata. 100

"DESARROLLO DE UNA MEZCLA DE CONSERVANTES PARA SU APLICACIÓN EN LONGANIZA, CON EL FIN DE AUMENTAR EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DEL PRODUCTO ELABORADO POR LA EMPRESA ITALIMENTOS CIA LTDA."

RESUMEN.

El presente estudio está orientado a obtener un conservante cárnico a partir de la mezcla de ácidos orgánicos, que permitirá aumentar el tiempo de vida útil de longaniza. De esta forma reemplazar los conservantes actualmente importados y utilizados en Italimentos Cia. Ltda. Para ello se estudiaron las propiedades antimicrobianas del ácido cítrico, acético y láctico mediante la utilización de diseño experimental Box Behenken, el mismo permitió evaluar cada una de las mezclas, realizando análisis microbiológico en *E. Coli, Mesofilos Aerobios y Staphylococcus Aureus*, microorganismos causantes del deterioro de la vida de anaquel de los embutidos crudos según NTE INEN 1 338 – 2012. Los resultados obtenidos del diseño experimental indican cual es la mejor combinación que tiene las características idóneas para contrarrestar la perdida de la vida de anaquel del producto.

Palabras Clave: Conservante, ácidos orgánicos, tiempo de vida útil, antimicrobianas, microbiológico, Box Behenken, E. Coli, Mesofilos Aerobios, Staphylococcus Aureus.

Dr. Piercosimo Tripaldi Cappelletti
Director.

Ing. Fausto Tobías Parra Parra.
Director de Escuela.

Cristian Fernando Garcia Vintimilla.
Autor.

"DEVELOPMENT OF A PRESERVATIVE MIXTURE FOR ITS USE IN SAUSAGE PRODUCTION IN ORDER TO INCREASE THE SHELF- LIFE OF THE PRODUCT MADE BY *ITALIMENTOS CIA LTDA* COMPANY."

ABSTRACT

This study is aimed at obtaining meat preservatives from the mixture of organic acids, in order to increase the shelf-life of sausages; and in this way replace the imported preservatives currently used at *Italimentos Cia. Ltda.* The antimicrobial properties of citric, acetic and lactic acid were examined by using the Box–Behnken experimental design, which evaluate each of the mixtures by performing a microbiological analysis in *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Aerobic mesophilic* bacteria; microorganisms that cause the deterioration of the shelf-life of raw sausage according to NTE INEN 1338 - 2012. The results of the experimental design application indicate which combination has the most suitable characteristics to counteract the product loss of shelf-life.

Keywords: Preservative, Organic Acids, Shelf-Life, Antimicrobial, Microbiological Life, Box Behenken, Escherichia Coli, Aerobic Mesophilic Bacteria, Staphylococcus Aureus.

Dr. Piercosimo Tripaldi Cappelletti
Thesis Director.

Ing. Fausto Tobías Parra Parra.
School Director

Cristian Fernando Garcia Vintimilla.
Author

UNIVERSIDAD DEL AZUAY
Dpto. Idiomas

Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

García Vintimilla Cristian Fernando.

Trabajo de Graduación.

Tripaldi Capelleti Piercosimo.

Mayo de 2015.

“DESARROLLO DE UNA MEZCLA DE CONSERVANTES PARA SU APLICACIÓN EN LONGANIZA, CON EL FIN DE AUMENTAR EL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DEL PRODUCTO ELABORADO POR LA EMPRESA ITALIMENTOS CIA LTDA.”

INTRODUCCIÓN.

El deterioro de los alimentos trae consigo implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización, perdida de la imagen de marca, etc.) como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos recién adquiridos y antes de su consumo). Estadísticamente se ha comprobado que más del 25% de todos los alimentos producidos en el mundo se pierden por acción de los microorganismos (FENNEMA, 2010).

Un derivado cárnico o embutido se considera deteriorado, dañado o no apropiado para el consumo humano cuando desprende olores o sabores no deseados o porque el deterioro fue causado por la acción de microorganismos que, en la mayoría de casos, pueden ser altamente patógenos. Los microorganismos que la carne adquiere durante los procesos de faenado y desposte inicial en las canales, así como el manejo sanitario inadecuado en los procesos de desarme, pueden ser los causantes del deterioro rápido de estos alimentos (FORREST, 2006).

Los conservantes son agentes químicos capaces de inhibir, retardar o impedir procesos de fermentación, acidificación u otra alteración, además de enmascarar ciertos cambios que ocurren en el alimento (IBANEZ, *et al* 2006)

En la actualidad se intenta reducir la adición de conservantes, sustituyéndolos por el uso de tecnologías como esterilización, atmósferas controladas en embalajes adecuados, o la utilización de cadenas de frío entre la producción y el consumo. Sin embargo, esto no siempre es práctico, ya que existen bacterias resistentes a altas temperaturas, no siempre se garantizará la refrigeración en toda la cadena alimentaria, y además esta no detiene del todo el crecimiento microbiano. (IBANEZ, *et al* 2006)

Por todos estos aspectos citados anteriormente la industria Italimentos Cía. Ltda. ‘’ Que tuvo su inicio en el año 1985 en el sector La Fátima Cuenca, que en la actualidad cuenta con la maquinaria e infraestructura adecuada para la elaboración y comercialización de una gran variedad de productos cárnicos cocidos, crudos y ahumados’’ Vió la necesidad de desarrollar un conservante que ayude alargar el tiempo de vida útil a sus alimentos, para así brindar un mejor servicio a sus clientes como también contar con una alternativa propia que permita depender de importaciones que cada día son más difíciles de realizar y por las cuales se pagan impuestos muy altos.

El presente trabajo propone desarrollar una mezcla de ácidos orgánicos para su aplicación en longaniza, con el fin de aumentar el tiempo de vida útil del producto elaborado por la empresa Italimentos Cia Ltda.

OBJETIVO GENERAL.

- Desarrollar una mezcla de ácidos orgánicos para su aplicación en longaniza, con el fin de aumentar el tiempo de vida útil del producto así como tambien obtener un conservante que reemplace a los importados y utilizados actualmente por Italimentos Cia Ltda.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Formular una mezcla que permita optimizar el potencial antimicrobiano de los ácidos orgánicos en la longaniza mediante diseño experimental.
- Evaluar organolépticamente y microbiológicamente las optimizaciones, con el fin de determinar el tiempo de vida útil y los efectos sensoriales que produzca sobre el producto final.

CAPÍTULO 1. TIEMPO DE VIDA UTIL DE LOS ALIMENTOS.

1.1 Conceptos y generalidades.

La longaniza es un embutido largo compuesto por el intestino de cerdo, relleno de una mezcla de carne de res, grasa de res, grasa de cerdo, condimentada por especias. En muchos lugares, se ha sustituido la tripa (intestino) natural de cerdo, por una envoltura sintética. Se caracteriza por ser un embutido largo y angosto. (Yague, A. & Yague, F, 2005)

1.2 Tiempo de vida útil.

La vida útil de un alimento se define como el tiempo transcurrido entre la fabricación y el momento que presenta cambios significativos en él, que puedan generar rechazo en el consumidor final. Puede variar según la naturaleza del producto, el proceso productivo y el tiempo de almacenamiento, obteniéndose cambios a nivel físico-químico, sensorial y/o microbiológico (Bolumen, 2005)

Es importante identificar los factores específicos que afectan el tiempo de vida útil y evaluar sus efectos individualmente y en combinación. Estos se pueden dividir en:

a) Factores intrínsecos: materia prima (composición, estructura, naturaleza), actividad de agua, pH, acidez, disponibilidad de oxígeno y potencial redox.

b) Factores extrínsecos: procesamiento, higiene y manipulación, materiales y sistemas de empaque, almacenamiento, distribución y condiciones de venta. (Man, 2007)

A nivel sensorial, la vida útil en estantería de los alimentos depende de la aceptación, al interactuar los alimentos con el consumidor. Por ello los consumidores son la herramienta más apropiada para determinarla. (Hough, *et al* 2005).

1.3. Factores que afectan la vida útil de los alimentos.

1.3.1 Temperatura.

Uno de los factores principales para detener la degradación de los alimentos es la baja de temperatura, ya que ocasiona una reducción de la respiración de microorganismos patógenos causantes del deterioro de los comestibles (Miranda, 2004)

La temperatura afecta no solo al desarrollo de microorganismos, sino también a todos los procesos químicos y bioquímicos en los alimentos. La velocidad de la mayoría de las reacciones químicas se incrementa al subir la temperatura. Temperaturas bajas reducen las velocidades de reacción enzimática, afectando probablemente a la afinidad enzima-sustrato (Miranda, 2004).

Sin embargo, la temperatura no puede ser excesivamente baja, porque entonces puede producirse daños fisiológicos por la formación de cristales grandes alargados o agujas que causan rotura de las fibras y paredes celulares. La temperatura de almacenamiento optima seria la que minimizara los procesos de deterioro sin causar alteraciones fisiológicas. (Miranda, 2004).

1.3.2 Personal manipulador.

Los manipuladores que intervienen el proceso de transformación y elaboración de los productos deben tener la formación, los conocimientos, aptitudes y la capacidad para desempeñar la tarea que se le asigne además debes estar sujeta a los requisitos especificados por la autoridad competente se debe contar con una persona encargada del control, a quien corresponde garantizar que se cumplen los requisitos reglamentarios (Menchu, 2005)

1.3.3 Procesamiento.

Los factores que pueden influir en la vida útil de un producto alimenticio son: - La calidad de las materias primas. - La puesta en práctica de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM). - El tipo y capacidad de los equipos de procesamiento. - Las condiciones sanitarias de las instalaciones. - Las condiciones de almacenamiento, transporte y distribución del producto (Menchu, 2005).

1.3.4 Empaque.

En la preservación de los alimentos, el empaque tiene la función de "protección" contra contaminantes que se encuentran en el ambiente y contra daños físicos, fuerzas, quebraduras. El empaque también protege a los embutidos la humedad. Si no protege, por ejemplo, los alimentos sufren cambios en su textura y apariencia, pudiendo presentar moho en la superficie (Menchu, 2005)

1.4 Microorganismos causantes del deterioro de los productos cárnicos.

Los principales microorganismos causantes del deterioro de la vida de anaquel de los alimentos son:

1.4.1 *Escherichia coli.*

Es un bacilo catalasa-positivo, oxidasa-negativo, fermentador Gram-negativo, es un organismo mesófilo que crece a temperaturas desde 7ºC hasta 50ºC, con una temperatura óptima de 37ºC y es capaz de resistir el almacenamiento en refrigeración o en congelación (Adams & Moss, 2005).

Por lo general, los coliformes están representados por cuatro géneros de la familia Enterobacteriaceae: *Citrobacter, Enterobacter, Escherichia y Klebsiella.*

Los factores que contribuyen a la presencia de la bacteria en rumiantes se desconocen, pero se discute la habilidad de la misma al colonizar una localización en particular en el sistema gastrointestinal. El tiempo promedio en el cual este patógeno se mantiene en el sistema gastrointestinal de los rumiantes es de 30 días, aunque en algunos animales la bacteria puede estar presente hasta un año o más (Adams & Moss, 2005).

Muchas investigaciones han demostrado que el colon de los rumiantes adultos es el lugar donde principalmente se aloja el patógeno y que crece en un amplio rango de temperatura. El mismo puede sobrevivir a temperaturas de congelación y rangos de pH desde 4.4 a 9 (Adams & Moss, 2005).

El proceso de pasterización o cocción adecuada del alimento a 70°C por 2 minutos elimina este patógeno. Se ha demostrado que a temperaturas de 4ºC a 5°C la población bacteriana no disminuye significativamente en un periodo de siete días (Adams & Moss, 2005).

Entre las causas principales de presencia de *E. Coli* en los derivados cárnicos se pueden distinguir:

- Las condiciones inadecuadas de recolección, manipulación, almacenaje y transporte de materias primas cárnicas.
- Condiciones sanitarias inadecuadas de superficies que entran en contacto con los alimentos
- Malas prácticas de higiene (Jay, 2000).

1.4.2 *Staphylococcus aureus.*

Pertenece al género *Sthaphylococcus* son cocos Gram-positivos, anaerobios facultativos, no móviles, que no forman esporas, catalasa positivos, oxidasa negativos. Estos microorganismos se acomodan como células simples, en pares y en cadenas cortas, pero aparecen en forma predominante en grupos como racimos (Adams & Moss, 2005).

Esta bacteria es un mesófilo típico con un intervalo de temperatura de crecimiento entre 7 y 48°C y una temperatura óptima de 35-40°C. Su pH óptimo se encuentra

entre 6 y 7 con límite mínimo y máximo de 4,0 y 9,8 respectivamente. Aunque la producción de toxina se realiza entre unos valores más limitados con escasa efectividad por encima de 8 y por debajo 6 (Adams & Moss, 2005).

La presencia de Staphylococcus aureus en derivados cárnicos expone al alimento tratado a un riesgo de contaminación cruzada (Adams & Moss, 2005).

1.4.3 *Mesófilos aerobios.*

Según Vanderzant y Splittstoesser (2005), se agrupan en dos géneros importantes: Bacillus y Sporolactobacillus formadores de endoesporas. En los cuales se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse en las condiciones establecidas. En este recuento se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena.

CAPÍTULO 2. SUSTANCIAS ORGANICAS QUE AYUDAN A LA CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS.

2.1 Ácidos orgánicos.

Los ácidos orgánicos están ampliamente distribuidos en la naturaleza como constituyentes habituales de plantas y tejidos animales (Jaramillo, 2011).
El pH y el contenido de ácidos orgánicos de un alimento son dos factores que determinan, no solo los microorganismos que pueden sobrevivir durante su tiempo de vida útil sino también su capacidad para alterar dicho alimento.

El efecto combinado de un pH bajo, más una concentración más o menos elevada de un ácido débil, conduce a un acidificación del citoplasma, usualmente suficiente para restringir el desarrollo microbiano, junto con otros efectos más específicos en la actividad celular (Gauthier, 2009).

Los más utilizados como conservantes son el ácido propionico (potente anti fúngico), el ácido formico (Potente bactericida) y como acidificante el ácido cítrico y fumarico. Otros ácidos que actualmente se encuentran utilizando mucho en la industria alimentaria son el sorbico, acético, láctico, málico y combinaciones. Todos ellos ayudan tanto conservando como acidificando (Jaramillo, 2011).

2.2 Mecanismos de acción de los ácidos orgánicos.

Los ácidos orgánicos funcionan a través de la acidificación del medio y de su actividad antimicrobiana. Estas sustancias son capaces de ionizarse perdiendo un protón (H+) y este a su vez induce en el medio una baja de pH que por un lado ayuda a los procesos digestivos(favorece a la activación de pepsinogeno a pepsina, esto ayuda a la optimización de la digestión de las proteínas) y por otro lado crea un ambiente propicio para el desarrollo y crecimiento de las bacterias acido resistentes (Lactobacillus), además de crear un ambiente desfavorable para el desarrollo y crecimiento de las bacterias patógenas (Pojota, 2011)

El principio básico del modo de acción de los ácidos orgánicos sobre las bacterias es que las sustancias orgánicas no disociadas pueden penetrar a través de la pared celular bacteriana y alterar adversamente la fisiología normal de ciertos tipos de bacterias. El pH interno disminuye y, debido a que las bacterias sensibles al pH no toleran una diferencia muy grande entre el pH interno y el externo, se activa un mecanismo específico (bomba H+ - ATPasa) para hacer que el pH dentro de la bacteria retorne a su nivel normal (Gauthier, 2009).

Este fenómeno consume energía y, eventualmente, puede detener el crecimiento de la bacteria o incluso matarla. Además la reducción del pH interno implica otros mecanismos como la inhibición de la glucólisis, el impedimento del transporte activo y la interferencia con la transducción de señales. (Gauthier, 2009).

2.3 Análisis sensorial.

La ‘’Evaluación sensorial’’ es una disciplina científica mediante la cual se evalúan las propiedades organolépticas a través del uso de uno o más de los sentidos humanos(la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído), Mediante esta evaluación pueden clasificarse las materias primas y productos terminados, conocer que opina el consumidor sobre un determinado alimento, su aceptación o rechazo, así como su nivel de agrado, criterios estos que se tienen en cuenta en la formulación y desarrollo de los mismos (Martínez, 2011).

El análisis sensorial estudia y traduce los deseos y preferencias de los consumidores en propiedades tangibles y bien definidas en un producto dado, comparando y analizando las características de los productos que los consumidores aceptan o rechazan; este análisis contribuye a destacar los aspectos positivos y negativos y a adaptarlos para responder mejor al gusto de los consumidores. Este aspecto es vital para toda empresa que desee ser competitiva en el mercado actual (Martínez, 2011).

Con los avances tecnológicos en el procesamiento de alimentos, la vida de los alimentos en la mayoría de los casos ya no está solamente definida por el aspecto sanitario (riesgo para la salud), sino por el rechazo desde el punto de vista sensorial (I.P.F, 2010).

2.3.1 Campos de aplicación del análisis sensorial.

La evaluación sensorial se emplea en el control se calidad de productos alimenticios, en la comprobación de un nuevo producto que sale al mercado, en la tecnología alimentaria cuando se intenta evaluar un producto nuevo. (I.P.F, 2010).

El análisis sensorial no solo actúa en la selección de las materias primas, sino que también es de gran utilidad en el control de proceso, tanto como la adaptación del producto a su perfil final, como para la realización de modificaciones o correcciones en el transcurso de la elaboración. Considerando aspectos del producto terminado, el análisis sensorial, va referido también a la determinación de la vida útil del alimento, o al deterioro que sufrirá durante su comercialización. Los conocimientos así adquiridos permitirán prever las consecuencias sobre las características organolépticas y estudiar las formas de subsanarlas o minimizarlas (Sancho, *et al* 2004).

Otra función de análisis sensorial, se aplica al control de mercado, las investigaciones sobre la opinión del consumidor, en base al grado de aceptación del producto, las diferencias entre los productos, la diferencia de los productos propios y los de la competencia, la evolución del gusto en los grupos sociales, entre otros, solo pueden llevarse a cabo sensorialmente. La aplicación de análisis sensorial dependerá del objetivo concreto que se busque. (Sancho, *et al* 2004)

2.3.2 Indicadores de pérdidas de atributos sensoriales.

Para poder evaluar el tiempo de vida útil será necesario definir un indicador de calidad, este indicador va variando en función del tiempo (Martínez, 2011). Los siguientes indicadores son:

a) Físicos(Golpes, fisuras, problemas en proceso)
b) Químicos(Pardeamiento, enranceamiento)
c) Biológicos(Enzimas , parásitos , microorganismos)
d) Pruebas sensoriales(Cataciones)

CAPÍTULO 3. DISEÑO DE SUPERFICIES DE RESPUESTA Y SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS.

3.1 Diseños experimentales.

Para la toma de decisiones en innumerables investigaciones científicas es de vital importancia el análisis experimental ya que ayudan a interpretar la forma en la que funcionan los sistemas y procesos (Montgomery, 2003). Es por eso que el diseño de experimentos constituye una herramienta sistemática que puede utilizarse en la resolución de varias situaciones que se presenten en la ingeniería de los alimentos.

Es la aplicación de determinados principios y técnicas sobre un conjunto de datos experimentales, los cuales varían según los diferentes métodos de diseño de experimentos, esto nos ayuda en lo posible a obtener conclusiones acerca del proceso en estudio con un elevado grado de validez y consistencia. De esta manera un diseño de experimentos representa la planificación detallada de un programa de ensayos, y la elección acertada del mismo permite obtener una mayor cantidad de información a partir del trabajo experimental realizado (Simón, *et al* 2004).

En la práctica, lo que se realiza es cambiar voluntariamente una o más variables del proceso, a las cuales se las conoce como factores, con el fin observar los efectos que estos cambios producen sobre una determinada propiedad a la cual se denomina respuesta (Simón, *et al* 2004).

Un diseño experimental comienza con la determinación de los objetivos y la posterior selección de los factores del proceso y sus niveles. Se entiende por nivel o el tratamiento de un factor al valor que adopta el mismo en cada una de las corridas que forman el diseño de experimentos. La región o zona limitada por el nivel inferior y superior de cada uno de los factores involucrados en el diseño se denomina dominio (Simón, *et al* 2004).

3.2 Clasificación de los diseños de experimentos.

Los diseños experimentales se clasifican en:

3.2.1. Métodos comparativos.

Se utilizan cuando se desea estudiar uno o varios factores de un proceso y concluir cuál de ellos es el más importante. Interpretando, además, si este factor es o no significativo (si existen o no cambios significativos en la respuesta para diferentes niveles del factor) (Menéndez, 2006)

3.2.2 Métodos de los efectos principales.

Tienen el propósito de individualizar y seleccionar entre la totalidad de los factores involucrados en el experimento aquellos que producen los efectos más importantes (Menéndez, 2006).

3.2.3 Métodos de superficie de respuesta.

La utilización de estos métodos permite estimar la interacción y los efectos cuadráticos producidos por los factores, otorgando además una idea de la forma de la superficie de respuesta en la zona de estudio (Menéndez, 2006).

3.2.4 Diseño de mezclas.

Permiten conocer cuál es la mejor combinación en las proporciones de los componentes de una mezcla que otorga el valor mínimo o máximo de una determinada respuesta. (Menéndez, 2006).

3.2.5 Modelos de regresión.

Son empleados para conocer la función matemática que representa a un determinado modelo con sus parámetros estimados correctamente (Menéndez, 2006).

3.3 Selección de un diseño de experimentos.

Al existir una gran variedad de métodos de diseño de experimentos es necesario realizar un análisis exhaustivo previo, con el fin de seleccionar el método más conveniente, en función del objetivo perseguido (Menéndez, 2006).

La elección del diseño de experimentos se define con la cantidad de factores involucrados en el proceso. En la Tabla 1 se observa una guía de selección de diseños de experimentos en función del objetivo perseguido y el número de factores incluido en el experimento (Menéndez, 2006).

Finalizada la selección del o los diseños por su objetivo se debe emplear aquel que contemple el número de variables en estudio.

Tabla 1 Guía para la selección de experimentos.

Número de factores	Métodos comparativos	Efectos principales	Superficie de respuesta	Diseño de mezclas
1	Diseño completamente aleatorio	...	...	...
2 - 4	Diseño por bloque aleatorio	Método factorial fraccionario o completo	Central compuesto o Box-Behnken	Simplex o vértices extremos
5 ó más	Diseño por bloque aleatorio	Método factorial fraccionario o Plackett-Burman	Reduccón del número de variables (efectos importantes)	...

Fuente: (Menéndez, 2006)

3.4 Metodología de superficie de respuesta (MSR).

3.4.1 Introducción.

En muchas ocasiones se presentan experimentos en los que no se obtiene el nivel de mejoras buscado, por lo que es necesario realizar un análisis secuencial que permita

desplazar la región experimental en una dirección adecuada, dicho de otra manera lo que se busca es explorar en forma más detallada la región experimental inicial. La forma de realizar ambas cosas es parte de la llamada metodología de superficies de respuesta.

3.4.2 Elementos de la MSR

La metodología de superficies de respuesta implica tres aspectos: diseño, modelo y técnica de optimización (Gutiérrez, H. y DE LA Vara, R. 2008).

- **Diseño:** Hace referencia al experimento apropiado basado en el conocimiento actual acerca de la posible ubicación del punto óptimo y el modelo de regresión que se requiere ajustar.
- **Modelo:** Es la ecuación matemática que relaciona la variable de respuesta con los factores estudiados en el diseño. Por lo general es un modelo de regresión múltiple.
- **Optimización**: Constituye la técnica matemática que sirve para extraer la información sobre el punto óptimo que tiene el modelo ajustado

3.4.3 Diseños de superficies de respuesta.

3.4.3.1 Diseños de primer orden.

Al proponer un diseño de primer orden suponemos que solo son importantes los efectos principales. Estrictamente hablando, para estimar los k+1 parámetros del modelo de primer orden se requiere un mínimo de k+1 puntos experimentales (Gutierrrez, H. y DE LA Vara, R. 2008).

Un criterio de selección del diseño de primer orden es que la varianza de la respuesta predicha sea mínima. Los diseños que satisfacen este criterio son los que tienen la propiedad de ortogonalidad (coeficientes no están correlacionados entre sí), entre los más utilizados tenemos:

- Diseño factorial 2^k.
- Diseños factoriales fraccionados 2^{k-p}.
- Diseño de Plackett-Burman
- Diseño simplex.

3.4.3.2 Diseños de segundo orden.

Son aquellos que permite ajustar un modelo de segundo orden con el fin de estudiar no solo los efectos lineales e interacciones sino también los efectos cuadráticos o de curvatura pura. Por consiguiente, estos diseños se utilizan cuando se espera estudiar una región que se espera sea más compleja o cuando se cree que el punto óptimo se encuentra dentro de la región experimental.

El modelo de segundo orden está dado por:

$$y = b0 + b1x1 + b2x2 + b3x3 + b11x1^2 + b22x2^2 + b33x3^2$$

En el cual el modelo debe tener por lo menos tres niveles en cada factor para estimar la curvatura de la superficie en la dirección de cada factor (Gutiérrez, H. y DE LA Vara, R. 2008).

3.4.3.2.a Diseño box-behenken.

Este diseño se aplica cuando se tienen tres o más factores, y suelen ser eficientes en cuanto al número de corridas. Es un diseño rotable o casi rotable que se distingue porque no incluye como tratamientos a los vértices de la región experimental. En la tabla 2 se muestra los 15 tratamientos del diseño Box-Behnken para tres factores.

Tabla 2 Matriz del diseño Box behenken para tres factores.

Tratamiento	x_1	x_2	x_3	Tratamiento	x_1	x_2	x_3
1	–1	–1	0	9	–1	0	–1
2	1	–1	0	10	1	0	–1
3	–1	1	0	11	–1	0	1
4	1	1	0	12	1	0	1
5	0	–1	–1	13	0	0	0
6	0	1	–1	14	0	0	0
7	0	–1	1	15	0	0	0
8	0	1	1				

Fuente: (Gutiérrez & DE LA Vara, 2008)

Su representación geométrica se muestra en la Figura 4. Observe que los puntos de este diseño se ubican en medio de las aristas del cubo centrado del origen y, como se había señalado, no incluye los tratamientos de los vértices. Esto hace que los tratamientos sean menos extremos que los del factorial completo 3^2 (Gutierrrez, H. y DE LA Vara, R. 2008)

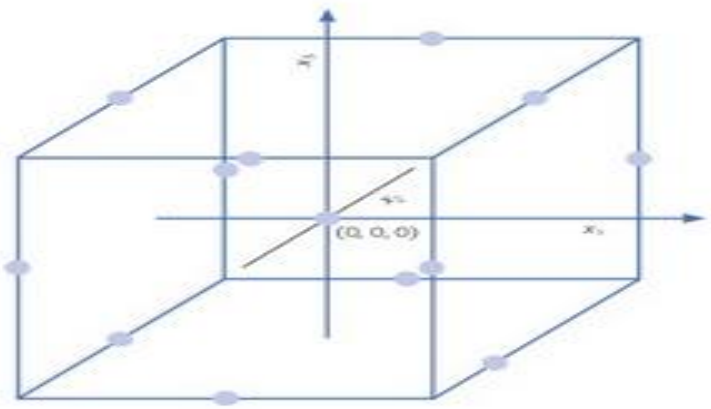


Figura 1 Representación del diseño Box-Behenken para tres factores.
Fuente:(GUTIÉRREZ & DE LA VARA, 2010)

3.5 Ácidos orgánicos.

Los ácidos orgánicos (acético, ascórbico, cítrico, fórmico, láctico, propiónico, peracético y sus sales) son ampliamente usados en procesos de manufactura de muchos alimentos. Los ácidos orgánicos son más eficaces en forma molecular no disociadas, es decir que el valor de pH funcional debe ser ≤ 5,5.

El efecto antimicrobiano de estos ácidos es más efectivo en superficies grasas que en las magras, pues éstas tienen una capacidad de amortiguación superior. También la materia orgánica como la sangre o el contenido intestinal tendera a reducir los efectos antimicrobianos (López & Casp, 2004)

3.5.1 Ácido láctico.

Acido 2-hidroxi propiónico (E 270), es un líquido incoloro o amarillento, de consistencia de jarabe, con sabor ácido, se obtiene por la fermentación láctica de azucares o se prepara sintéticamente. Aplicado por aspersión en carne de mamíferos no produce decoloración de la superficie cuando se utiliza en concentraciones eficaces de uso de aproximadamente 1% (pH=2,4), los olores y sabores anormales no aparecen hasta concentraciones del 2%.
Estos tratamientos reducen significativamente tanto la población de enterobacteriáceas como de la flora alterante, no solo por efecto del bajo pH sino también por el ácido láctico no disociado (López & Casp, 2004).

3.5.2 Ácido acético.

Ácido metilencarboxílico o ácido etanóico (E 260), es un ácido de origen natural, presente en la mayoría de las frutas. Es producido a través de una fermentación bacteriana, y por consiguiente, está presente en todos los productos fermentados; comercialmente es elaborado por medio de la fermentación bacteriana del azúcar, las melazas o el alcohol, o por síntesis química del acetaldehído. (López & Casp, 2004).

Se utiliza para controlar diferentes especies de levaduras y de bacterias, y en menor grado de hongos y en productos cárnicos que se almacenan por poco tiempo. Su efectividad se incrementa por reducción de pH, ya que la molécula sin disociar es la activa. No es toxico en concentraciones inferiores al 3% (Badui, 2006)

Está autorizado en Estados Unidos para la descontaminación de canales de mamíferos. Se utilizan, tras un lavado con agua fría, soluciones al 1,5 % de ácido acético a 14,4ºC o a 52ºC, aplicadas por aspersión; en ambos casos se producen

reducciones en los recuentos de *E. coli*, Enterobacteriáceas y bacterias aerobias, aunque el segundo es más eficaz. (López & Casp, 2004).

3.5.3 Ácido cítrico.

Ácido 2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxílico, es un producto que abunda en el reino vegetal, fundamentalmente en frutas tales como limón, naranja, piña, ciruela, pera y en los huesos de animales, músculos y sangre (Badui, 2006).

Es uno de los ácidos orgánicos que más se utiliza en el mundo. Es un ácido dibasico, lo que permite la formación de sales neutras, una de tipo alcalino y dos sales diferentes dialcalinas. También forma sales de tipo complejos solubles con varios iones metálicos, además, es muy usado como consumo humano ya que presenta alta solubilidad, baja toxicidad, fuerte poder quelante y sabor agradable, por lo que tiene numerosas aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica y otras (Blanco, & Erryman 2001)

El 75% de la producción de ácido cítrico se utiliza en la industria alimentaria como acidulante, tampón, emulsificante, estabilizador de grasas y aceites y para acentuar el sabor.

El mayor consumidor de ácido cítrico es la industria alimentaria, en el cual se utiliza como saborizante y para garantizar la conservación de productos, representando entre el 70 – 80% del total.

Existen diversos métodos de obtención de ácido cítrico pero uno de los más utilizados es la conversión fermentativa de Fuentes azucaradas a través de fermentación de soluciones de glucosa, sacarosa o melazas de azúcar de caña, mediante la utilización de mohos como Aspergillus Níger (Badui, 2006)

CAPÍTULO 4. MATERIALES Y METODOS.

4.1 Matriz de diseño box behenken.

Para evaluar la actividad antibacteriana de los diferentes ensayos se desarrolla un diseño estadístico de experimentos para aplicar la metodología de superficies de respuesta Box Behenken, el cual permite conocer simultáneamente los efectos e interacciones en una zona escogida del dominio experimental y encontrar el máximo de la respuesta para la optimización posterior.

Además se ha seleccionado tres factores: Ácido cítrico(X1), Ácido láctico(X2) y Ácido acético(X3) los mismos que proporcionan una respuesta considerada como tiempo de vida útil, en la tabla # 3 se encuentra la matriz de diseño experimental en estudio que está compuesta de 13 pruebas y 4 réplicas con el fin de establecer la mezcla con mayor impacto significativo sobre la vida de anaquel de la longaniza.

Tabla 3 de mi autoría: Matriz de estudio Box-Behenken.

Matriz del diseno Box-Behnken			
Prueba	X1	X2	X3
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	0	-1	-1
6	0	1	-1
7	0	-1	1
8	0	1	1
9	-1	0	-1
10	1	0	-1
11	-1	0	1
12	1	0	1
13	0	0	0
R1	0	0	0
R2	0	0	0
R3	0	0	0
R4	0	0	0

El valor codificado cero representa los valores expuestos en la ficha técnica, los que se detalla continuación:

- Ácido cítrico: Dosis recomendada de acuerdo a nivel de acidez deseado en producto final **(VER ANEXO 1)**
- Ácido láctico como antimicrobiano se recomienda soluciones del 2% **(VER ANEXO 2)**
- Ácido acético: Dosis recomendada de acuerdo a nivel de acidez deseado en producto final **(VER ANEXO 3)**

Los valores codificados +1 son el 10% más alto de la dosis recomendada en la ficha técnica y los -1 son el 10% menos.

La superficie de respuesta que se utiliza para codificar los valores reales con los datos tendrá la siguiente estructura.

$$y = b0 + b1x1 + b2x2 + b3x3 + b11x1^2 + b22x2^2 + b33x3^2$$

Los valores de los coeficientes b_i se los obtiene resolviendo la siguiente ecuación matricial.

$$b = (x^T X)^{-1} X^T Y$$

Para determinar los coeficientes significativos se harán cuatro replicas independiente del diseño en las condiciones indicadas en los manuales.

En el caso que $|bi| < t\,studen(\frac{\acute{\alpha}}{2}; g.l)\; s\,exp\sqrt{cii}$, donde s exp se obtiene de las cuatro replicas y cii son los elementos con los que cuenta la diagonal de la matriz de dispersión y representan el error debido a la planificación.

4.2 Elaboración de la longaniza

4.2.1 Equipos.

- Molino.
- Mezclador.
- Embutidora.
- Horno.

4.2.2 Materia prima.

- Carne de res.
- Grasa de cerdo.
- Grasa de res.
- Solución annato.
- Solución cochinilla.
- Proteína aislada de soya.

4.2.3 Aditivos.

1. Condimento longaniza.
2. Sal.
3. Sal nitrada.
4. Ácido cítrico.
5. Ácido acético.
6. Ácido láctico.

4.2.4 Procedimiento para elaboración longaniza.

4.2.4.1 Pesado de materia prima.

Una vez que las materias primas cárnicas hayan tenido todo el proceso de recepción y almacenado se procede con el pesado de las mismas, basándose en la tabla de fórmulas que corresponde a la elaboración de longaniza.

4.2.4.2 Molido

Esta actividad se realiza en molino con disco de salida número 13, la temperatura de la materia prima debe oscilar entre 3°C – 8°C.

4.2.4.3 Pesado de aditivos, condimentos y Fuentes proteicas

Esta labor se realiza en función a lo que indica la fórmula establecida.

4.2.4.4 Mezclado.

Realizar la mezcla de la materia prima molida con los aditivos y condimentos en el orden que indicamos a continuación:

1. Carnes de res, sal común, sal curante, hielo.
2. Condimento para longaniza.
3. Grasas.
4. Proteínas.
5. Solución de colorantes naturales

El tiempo total de mezclado es de 10 minutos y la temperatura de la pasta debe ser ≤12°C.

4.2.4.5 Reposo

Almacenar la pasta en las cámaras de producto en proceso a una temperatura ≤ 10°C durante un periodo de 12 – 24 horas, con el fin de alcanzar una maduración y nitrificación correcta.

4.2.4.6 Embutido

Embutir la pasta de acuerdo a los parámetros que se detalla a continuación:

- Material de la tripa: natural de cerdo.

- Diámetro: Se debe embutir con un diámetro mínimo de 32 mm hasta un máximo de 45 mm.
- Temperatura de embutido debe ser ≤14.

4.2.4.7 Amarrado y colgado.

Amarrar solo los extremos de las tripas y armar los productos en varillas que estén dispuestas, de tal manera que promuevan el escurrimiento (no en forma de racimo), medianamente separadas entre piezas (12 vueltas por varillas).

4.2.4.8 Oreo.

Dejar los carros con la longaniza en el área de hornos durante 12 - 15 horas.

4.2.4.9 Secado en hornos.

Con este proceso se busca: secado superficial de la piel y desarrollo del color. La temperatura de la cámara puede alcanzar hasta un máximo de 40°C y se realiza mediante aire forzado.

4.2.4.10 Selección.

Se realiza mediante el siguiente criterio:

1. Piezas reventadas, calibres muy delgados se los considera como Producto no conforme.

4.2.4.11 Empacado.

Una vez que la longaniza haya alcanzado una temperatura ≤ 10°C se empaca de acuerdo a las indicaciones que se detallan a continuación:

- Tarar balanza.
- Colocar producto sobre tina y ajustar hasta peso requerido.
- Amarrar los extremos que estén abiertos.
- Colocar en funda de polietileno.
- Amarrar funda y colocar etiqueta a mano.

4.2.4.12 Almacenamiento.

Por último se almacena la longaniza en las cámaras de producto terminado, quedando listo para realizar despacho a cada uno de los clientes.

4.3 Determinación de la carga microbiana de la longaniza.

Método Petrifilm.

Es un método rápido para el análisis microbiológico que brinda una solución lista para usar, consiguiendo con ello reducir el tiempo de trabajo además de minimizar costos.
Las placas contienen un agente gelificante, nutrientes deshidratados, indicadores específicos para identificar características propias de cada microorganismo, un sistema de doble película para atrapar el gas que producen algunos microorganismos y facilitar su identificación. Además posee una cuadrícula en la película inferior que facilita el recuento minimizando la probabilidad de error.

4.3.1 Equipos.

- Stomacher.
- Estufa.
- Lupa contador colonias.
- Auto clave.

4.3.2 Materiales.

- 51 Placas Petrifilm® para *Coliformes totales* y *E. coli*
- 51 Placas Petrifilm® para *Aerobios mesófilos*
- 51 Placas Petrifilm® para *Staphylococcus aureus*.
- 17 Frascos graduados.

- 85 Tubos de ensayo de 20 mL con 9 mL de agua de peptona
- Gradilla.
- Guantes
- Mechero
- Pinzas
- Pipetas automáticas de 1mL
- Pipeta serológica de 10ml.
- Pera de succión.
- Vasos de precipitación.
- Puntas estériles de 1 ml

4.3.3 Reactivos.

- Agua de peptona.
- Alcohol.
- Agua destilada

4.3.4 Procedimiento para cuantificación de microorganismos.

Una vez realizado todo el proceso de: elaboración, empacado y almacenado de la longaniza, se procede a determinar la cantidad de microorganismos presentes en el producto. Cabe indicar que la siembra se realiza cada cinco días empezando por el día cero hasta llegar al 15, los resultados obtenidos brindara un amplio panorama para valorar la eficacia de cada una de las mezclas.

4.3.4.1 Preparación de medios de cultivo (Agua peptona).

Son utilizados para el enriquecimiento previo no selectivo de bacterias, especialmente de Enterobacteriaceas patógenas a partir de alimentos y otros materiales.

Un enriquecimiento previo en este caldo conduce a mayores cuotas de crecimiento de Enterobacteriaceas patógenas, especialmente si existen bacterias subletalmente dañadas.

- **Forma de acción.**

Las sustancias nutritivas que contienen los caldos provocan una alta cuota de sobrevivencia de bacterias dañadas sub letalmente y un crecimiento intenso. El tampón de fosfato evita una variación del pH perjudicial para las bacterias.

- **Composición.**

Peptona de caseína 10g, cloruro sódico 5g, dihidrogenofosfato potásico 1,5g e hidrogeno fosfato disodico dodecahidrato 9g

- **Preparación.**

Se disolvieron 25.5g en un litro de agua desmineralizada. Si se desea, poner en recipientes más pequeños y auto clavar 15 minutos a 121°C. (DIN 10181)

4.3.4.2 Preparación de la muestra.

- Preparar una muestra de la dilución del alimento 1:10 o superior y llevarla a una funda estéril.
- Añadir 90 ml de agua de peptona, evite utilizar tampones que contengan citrato sodio o tiosulfato.
- Mezclar la muestra mediante métodos usuales o en el mejor de los casos utilizando Stomatcher.

4.3.4.3 Siembra.

- Colocar placa petrifilm en una superficie plana.
- Pipetear 1ml de muestra al centro aproximadamente del film interior, cabe indicar que la siembra se realizó en las diluciones que se detalla en la tabla # 4:

Tabla 4 de mi autoría. Diluciones del análisis microbiológico.

MICROORGANISMOS.	# DILUCIONES.		
S. aureus.	-2	-3	-4
Coliformes.	-2	-3	-4
Aerobios.	-4	-5	-6

- No tocar el film interior mientras se pipetea.
- Soltar el film superior y dejarlo caer, no deslizar el film hacia abajo
- Colocar el aplicador en el film superior bien centrado sobe el inoculo.
- Usar el inoculador con la cara lisa hacia arriba.
- Aplicar presión de manera suave sobre el aplicador para distribuir el inoculo por toda la zona circular.
- Levantar el inoculo, esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

4.3.4.4 Incubación.

- Incubar las placas petrifilm cara arriba y no apilar más de 20 placas.
- Incubar a 36 ± 1°C durante 72 ± 2 horas para aerobios Mesófilos.
- Incubar a 36 ± 1°C durante 24± 2 horas para determinación de coliformes / e coli y staphylococos aureus.

4.3.4.5 Interpretación *Mesófilos aerobios.*

Un indicador rojo presente en las placas colorea todas las colonias. Se tiene que contar todas las colonias rojas independiente de su tamaño y de la intensidad de color.

4.3.4.6 Interpretación *E.coli / Coliformes.*

Las placas Petrifilm EC contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias.

La mayoría de E. Coli (Cerca 97%) produce beta-glucoronidasa, la que su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. El film superior atrapa el gas producido por E Coli y coliformes fermentadores de lactosa.

La AOAC INTERNATIONAL y la FDA (Food and Drug Administration) / BAM definen los coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas a partir de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa.
Las colonias de coliformes que crecen en las placas Petrifilm EC producen ácido que provoca que el indicador de pH oscurezca el color del gel; el gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.

4.3.4.7 Interpretación *Staphylococcus aureus.*

La placa petrifilm Sthap Express para recuento de *Staphylococcus aureus* es un sistema de medio de cultivo listo para la muestra que contiene un agente gelificante soluble en agua fría. Las colonias rojo violeta en la placa son *S. aureus*.

El disco Staph Express Petrifilm se debe utilizar cuando se encuentren colonias diferentes de rojo violeta.

El disco Staph Express contiene una tintura y un acido desoxirribonucleico(DNA). El S. aureus produce desoxirribonucleasa(DNasa) y la DNasa reacciona con la tintura para formas colonias con zonas rosadas.

4.3.4.8 Cálculo y expresión de resultados.

El número de colonias contadas (UFC) se multiplicara por el número de diluciones que se realiza.

$$UFC = \#colonias\ contadas * \#dulición\ realizada.$$

4.4 Determinación carga microbiana de la optimización.

Método Compact Dry.

Compact Dry es un método sencillo, eficaz y seguro de determinar y cuantificar microorganismos en productos alimenticios. Las placas cromógenas de Compact Dry listas para el uso son adecuadas tanto para los controles a realizar durante el proceso como para los de producto final. (Nisuii, 2005)

Gracias a los indicadores redox y a los sustratos cromógenos, las colonias bacterianas crecen en colores específicos, pudiendo así distinguirse e identificarse con suma facilidad. La tapa con cierre giratorio permite transportar las muestras con seguridad para posterior incubación a la temperatura que se especifique para el caso entre 20°C y 42°C. (Nisuii, 2005)

4.4.1 Equipos.

- Stomacher.
- Estufa.
- Lupa contador colonias.
- Auto clave.

4.4.2 Materiales.

- 24 Placas Compact Dry para *Coliformes totales* y *E. coli*
- 24 Placas Compact Dry para *Aerobios mesófilos*
- 24 Placas Compact Dry para *Staphylococcus aureus*.
- 8 Frascos graduados.
- 40 Tubos de ensayo de 20 mL con 9 mL de agua de peptona

- Gradilla.
- Guantes
- Mechero
- Pinzas
- Pipetas automáticas de 1mL
- Pipeta serológica de 10ml.
- Pera de succión.
- Vasos de precipitación.
- Puntas estériles de 1 Ml

4.4.3 Reactivos.

- Agua de peptona.
- Alcohol.
- Agua destilada.

4.4.4 Procedimiento para cuantificación de microorganismos.

- Destapar la placa y deposite 1 ml de la muestra en el centro de la superficie de la placa Compact Dry.
- La muestra se dispersa automáticamente y homogéneamente sobre la superficie de la placa, transformando la lámina seca en un gel, en pocos segundos.
- Tape la placa nuevamente y anote la información necesaria en el espacio destinado para escribir.
- Cierre la placa, dele vuelta y colóquela en la incubadora. (Nisuii, 2005)

4.4.5 Incubación, utilizando placas compact dry

- Incubar a 35 ± 2°C durante 24 ± 2 horas para determinación de coliformes / e coli y staphylococos aureus.

- Incubar a 35 ± 2°C durante 48 ± 3 horas para determinación Mesófilos aerobios.

4.4.6 Interpretación de resultados.

4.4.6.1 Interpretación *Mesófilos Aerobios.*

Las placas Compact Dry es un medio que contiene agar de cultivo estándar y que sirve para comprobar el recuento total. Debido a la sal de tetrazolio, indicador redox, las bacterias presentan una coloración roja, pudiéndose con ello poder distinguir muy fácilmente de posibles restos de alimentos.
Casi todas las colonias que crecen son de color rojo. Las colonias rojas, junto con las de otros colores arrojan el recuento total. (Nisuii, 2005)

4.4.6.2 Interpretación *E. Coli*.

Es una placa cromogenica sirve para la detección de Coliformes y E. Coli, el medio contiene dos sustratos enzimáticos cromogenicos: Magenta-GAL y X-Gluc. De esta manera los Coliformes desarrollan una coloración roja, mientras que los de E. Coli es azul.
Las colonias que crecen denotan una coloración roja para Coliformes, mientras las de E. Coli son de coloración azul. Sumando las colonias rojas y azules resulta a cifra total del grupo coliformes. (Nisuii, 2005)

4.4.6.3 Interpretación *Staphylococcous aureus*.

Las colonias de *Staphylococcous aureus* exhiben un color azul claro y solamente estas se deben contar. Otras bacterias, además de *S. Aureus*, pueden crecer y formar color de colonias de color blanco y/o rojo purpura; sin embargo, solamente deben contarse las colonias de color azul claro.
Se ha observado que otras bacterias, especialmente del genero bacillus, pueden crecer y exhibir colonias de color azul/azul claro; sin embargo, dichas colonias se diferencian fácilmente de las *S. aureus* porque casi todas son de mayor diámetro y planas. (Nisuii, 2005)

4.5 Análisis sensorial.

La metodología utilizada en este proceso fueron pruebas hedónicas las cuales están destinadas a medir cuanto agrada o cuanto desagrada un producto. Para estas pruebas se utilizó escalas categorizadas, que pueden tener diferente número de categorías y que van desde ‘’igual a bueno’’, pasando por ‘’muy bueno´´, hasta llegara a ´´excelente´´ **(VER ANEXO 5).** Los panelistas indican el grado en que les agrada cada muestra, escogiendo la categoría apropiada.

4.5.1 Presentación de la muestra.

Las muestras se presentaron en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios. Cada muestra tiene un código diferente.

4.5.2 Análisis de datos.

Para el análisis de datos las categorías se convierten en puntajes numéricos del 1 al 3 donde uno representa igual a bueno y tres a excelente. Para determinar si los datos estadísticos obtenidos de las cataciones tienen valores significativos en comparación con la longaniza que se encuentran actualmente comercializando Italimentos Cia Ltda, se realizó el análisis de varianza utilizando la metodología del discriminante lineal en el software SCAN, del cual se pudo obtener una función que permita la clasificación de individuos, en clases definidas a priori, a partir de la puntuación obtenida con un conjunto de variables cuantitativas o cualitativas y de un nivel de corte.

Las cataciones se realizaron a ocho personas diferentes, cada cinco días con el fin de determinar si existe cambio significativo en las características organolépticas del producto en el transcurso del tiempo.

CAPÍTULO 5. ANÁLISIS DE RESULTADOS E INTERPRETACIÓN.

5.1 Diseño experimental.

Para este fin se utilizó un diseño experimental que permitirá optimizar las variables de concentración de ácidos orgánicos, con el fin de mejorar el tiempo de vida útil de la longaniza.

Este diseño experimental está basado en la metodología de superficies de respuesta, con un diseño Box Behnken incompleto de tres niveles con tres factores es decir que no incluye como tratamientos los vértices de la región experimental.

En la tabla # 5 se muestran las concentraciones en gramos de los 17 tratamientos del diseño Box Behnken.

Tabla 5 de mi autoría: Matriz de diseño Box-Behnken con las concentraciones de gramos de cada uno de los ácidos.

Matriz del diseño Box Behnken			
Experimento	Ácido Cítrico	Ácido láctico	Ácido acético
	X1	X2	X3
1	0,495	1,350	0,700
2	0,605	1,350	0,700
3	0,495	1,650	0,700
4	0,605	1,650	0,700
5	0,550	1,350	0,630
6	0,550	1,650	0,630
7	0,550	1,350	0,770
8	0,550	1,650	0,770
9	0,495	1,500	0,630
10	0,605	1,500	0,630
11	0,495	1,500	0,770
12	0,605	1,500	0,770
13	0,550	1,500	0,700

R1	0,550	1,500	0,700
R2	0,550	1,500	0,700
R3	0,550	1,500	0,700
R4	0,550	1,500	0,700

5.2 Análisis microbiológico.

5.2.1 Resultados de los recuentos de *Coliformes totales y E. coli* en la longaniza.

Se realizó recuento de *Coliformes totales* y *E. Coli* durante un lapso de 15 días, haciendo un total de 4 siembras para cada uno de los experimentos.

Tabla 6 de mi autoría: Resultados de los recuentos de *Coliformes totales y E. Coli*(UFC/g) realizados en la longaniza.

# Experimentos	Día 0	Microorganismos	Recuento UFC/g	Día 5	Recuento. UFC/g	Día 10	Recuento. UFC/g	Día 15	Recuento. UFC/g	Norma 1 338 -2012
1		E Coli	11000		3000		3000		2000	1000
		C. Totales	43000		14000		1.40E+04		5.00E+03	
2		E Coli	7000		3000		2000		2000	1000
		C. Totales	210000		25000		14000		10000	
3		E Coli	24000		10000		10000		11000	1000
		C. Totales	1.80E+05		16000		4.00E+04		4.10E+04	
4		E Coli	9000		3000		1000		1000	1000
		C.Totales	70000		8000		50000		6000	
5		E Coli	10000		2000		10000		10000	1000
		C.Totales	1.80E+05		7000		30000		50000	
6		E Coli	12000		2000		2700		3000	1000
		C.Totales	170000		3000		9000		21000	
7		E Coli	20000		5000		2000		1000	1000
		C.Totales	200000		7000		17000		13000	

8	E Coli	9000	2000	5000	4000	1000
	C.Toatales	22000	25000	10000	14000	
9	E Coli	12000	6000	2000	3000	1000
	C.Totales	33000	80000	23000	12000	
10	E Coli	10000	5000	2000	4000	1000
	C.Totales	70000	12000	1.50E+04	17000	
11	E Coli	9000	3000	6000	6000	1000
	C.Totales	160000	9000	22000	21000	
12	E Coli	8000	10000	2400	7000	1000
	C.Totales	3.00E+04	29000	1.00E+04	20000	
13	E Coli	13000	10000	10000	12000	1000
	C.Toatales	70000	12000	38000	42000	
14	E Coli	15000	10000	6000	1000	1000
	C. Totales	40000	9000	28000	10000	
15	E Coli	20000	10000	5000	4000	1000
	C. Totales	120000	40000	19000	19000	
16	E Coli	5000	20000	10000	8000	1000
	C.Toatales	110000	30000	30000	25000	
17	E Coli	16000	10000	10000	8000	1000
	C.Toatales	70000	9000	20000	17000	

Interpretación:

Los criterios de calidad microbiológica para productos cárnicos crudos detallan un máximo permitido de 1000 UFC/g de *E. Coli* según NTE INEN 1 338 – 2012(**VER ANEXO 4**) como indicador de afección del tiempo de vida útil de los alimentos por lo que comparando con la tabla # 6, se evidencia que la carga inicial de la longaniza en todos los experimentos se encuentra fuera de norma.

De los 17 experimentos realizados se observó que el de mejor eficiencia tiene frente a este tipo de microorganismos patógenos es el número 4, del cual se partirá para realizar la optimización posterior.

5.2.2 Resultados de los recuentos de *Staphylococcus aureus* en la longaniza.

Tabla 7 de mi autoría: Resultados de los recuentos de *Staphylococcus aureus* (UFC/g) en la longaniza.

Exp	Día 0	Microorga	Recuento UFC/g	Día 5	Recuento UFC/g	Día 10	Recuento UFC/g	Día 15	Recuento UFC/g	Norma 1 338 - 2012
1		S. Aureus	200		100		200		100	10000
2		S. Aureus	300		300		200		200	10000
3		S. Aureus	300		300		100		200	10000
4		S. Aureus	200		300		200		200	10000
5		S. Aureus	300		200		200		200	10000
6		S. Aureus	400		100		100		100	10000
7		S. Aureus	300		300		100		100	10000
8		S. Aureus	100		100		100		300	10000
9		S. Aureus	400		300		300		200	10000
10		S. Aureus	400		100		100		100	10000
11		S. Aureus	400		200		200		200	10000
12		S. Aureus	1000		100		100		300	10000
13		S. Aureus	600		200		100		100	10000
14		S. Aureus	100		100		200		100	10000
15		S. Aureus	100		100		100		100	10000
16		S. Aureus	300		200		100		100	10000
17		S. Aureus	400		200		100		100	10000

Interpretación.

Analizando la tabla # 7 se observa que los recuentos de *Staphylococcus aureus* se encuentran dentro de los criterios de calidad que exige la NTE INEN 1 338-2012 (**VER ANEXO 4**), la misma que detalla un máximo permitido de 10000 UFC/g.

5.2.3 Resultados de los recuentos de *Mesófilos aerobios* en la longaniza.

Tabla 8 de mi autoría Resultados de los recuentos de *Mesófilos Aerobios*(UFC/g) realizados en la longaniza.

Exp	Día 0	Microorga	Recuento UFC/g	Día 5	Recuento UFC/g	Día 10	Recuento UFC/g	Día 15	Recuento UFC/g	Norma 1 338 – 2012
1		Aerobios	5.30E+06		3.60E+06		9.80E+06		1.80E+07	1.00E+07
2		Aerobios	4.00E+06		3.00E+06		5.20E+07		9.30E+07	1.00E+07
3		Aerobios	3.10E+06		6.50E+07		9.50E+07		1.33E+08	1.00E+07
4		Aerobios	3.10E+06		2.90E+05		9.20E+07		9.30E+07	1.00E+07
5		Aerobios	7.00E+06		400000		8.70E+07		1.10E+08	1.00E+07
6		Aerobios	6.40E+06		400000		1.08E+06		1.17E+07	1.00E+07
7		Aerobios	3.50E+06		1.00E+06		7.00E+06		1.19E+07	1.00E+07
8		Aerobios	1.00E+07		6.50E+07		1.20E+08		1.19E+08	1.00E+07
9		Aerobios	3.60E+06		9.50E+07		8.80E+07		1.00E+08	1.00E+07
10		Aerobios	1.70E+06		5.00E+06		1.18E+08		1.28E+08	1.00E+07
11		Aerobios	6.90E+06		4.10E+07		9.10E+07		1.00E+08	1.00E+07
12		Aerobios	1.30E+06		9.90E+07		9.40E+07		1.15E+08	1.00E+07
13		Aerobios	1.70E+06		6.00E+06		1.10E+07		1.70E+07	1.00E+07
14		Aerobios	1.50E+07		6.70E+07		9.80E+07		1.23E+08	1.00E+07
15		Aerobios	3.60E+06		1.00E+06		9.90E+07		1.28E+08	1.00E+07
16		Aerobios	6.00E+06		1.00E+06		9.20E+07		1.25E+08	1.00E+07
17		Aerobios	2.30E+06		1.00E+06		1.13E+08		1.11E+08	1.00E+07

Interpretación.

Los criterios de calidad microbiológico para productos cárnicos crudos detallan un máximo permitido de 1.00E+07 UFC/g de *Mesófilos aerobios* según NTE INEN 1 338 – 2012 como indicador de afección del tiempo de vida útil de los alimentos (Ver anexo4) por lo que comparando con la tabla # 8, se evidencia que si bien un 88 % del total de los experimentos analizados se encuentran dentro del límite permitido como aceptable en el día cero a medida que pasa el tiempo los recuentos se empiezan a elevar terminado con valores por fuera de lo establecido en todos los ensayos.
Así mismo se observa que el experimento número 6 es el que mejor poder antimicrobiano tiene sobre las bacterias *Mesófilos aerobios* por ende de esta experiencia partiremos para su posterior optimización.

5.3 Análisis estadístico.

Una vez obtenido los resultados de la respuesta y utilizando el software Minitab 15, se determina los coeficientes de regresión, identificando los parámetros significativos, con los que se elabora un modelo polinómico con modelos matemáticos de segundo orden codificado como el que se muestra a continuación:

$$y = b0 + b1x1 + b2x2 + b3x3 + b11x1^2 + b22x2^2 + b33x3^2$$

5.3.1 Determinación de los coeficientes regresión.

En el recuento microbiológico que se realizó a los 17 experimentos claramente se evidencia que los mayores problemas que se presenta son las bacterias de E. Coli y Mesófilos Aerobios, por consiguiente se planteó realizar dos optimizaciones con el fin de atacar específicamente a cada una de los microorganismos problema y a al final tener un amplio panorama para escoger la mezcla óptima.

5.3.1.1 Coeficientes de regresión de la optimización 1

Al encontrarse con recuentos muy por encima de lo que permite la NTE INEN 1 338 -2012 (Ver anexo 4) como aceptable se optó por sacar la diferencia entre el recuento obtenido y el máximo permitido con el fin de que los valores se acerquen a la norma, los mismos que se detallan en las tablas # 9 y # 10.

- **Resultado de recuento *E. Coli* en la longaniza**.

Tabla 9 de mi autoría: Recuento *E. Coli* (UFC/g) en la longaniza.

E COLI			
t=0	t=5	t=10	t=15
11000	3000	3000	2000
7000	3000	3000	2000
24000	10000	10000	11000
9000	3000	1000	1000
10000	2000	10000	10000
12000	2000	2700	3000
20000	5000	2000	1000
9000	2000	5000	4000
12000	6000	2000	3000
10000	5000	2000	4000
9000	3000	6000	6000
8000	10000	2400	7000
13000	10000	10000	12000
15000	10000	6000	1000
20000	10000	5000	4000
5000	20000	10000	8000
16000	10000	10000	8000

- Diferencia entre recuento de *E. Coli* menos máximo permitido por la NTE INEN 1 338 2012.

Tabla 10 de mi autoría: Diferencia entre recuento de *E. Coli* y el máximo permitido por la NTE INEN 1 338 2012.

E COLI			
t=0	t=5	t=10	t=15

1.00E+04	2.00E+03	2.00E+03	1.00E+03
6.00E+03	2.00E+03	2.00E+03	1.00E+03
2.30E+04	9.00E+03	9.00E+03	1.00E+04
8.00E+03	2.00E+03	0.00E+00	0.00E+00
9.00E+03	1.00E+03	9.00E+03	9.00E+03
1.10E+04	1.00E+03	1.70E+03	2.00E+03
1.90E+04	4.00E+03	1.00E+03	0.00E+00
8.00E+03	1.00E+03	4.00E+03	3.00E+03
1.10E+04	5.00E+03	1.00E+03	2.00E+03
9.00E+03	4.00E+03	1.00E+03	3.00E+03
8.00E+03	2.00E+03	5.00E+03	5.00E+03
7.00E+03	9.00E+03	1.40E+03	6.00E+03
1.20E+04	9.00E+03	9.00E+03	1.10E+04
1.40E+04	9.00E+03	5.00E+03	0.00E+00
1.90E+04	9.00E+03	4.00E+03	3.00E+03
4.00E+03	1.90E+04	9.00E+03	7.00E+03
1.50E+04	9.00E+03	9.00E+03	7.00E+03

A continuación se presenta las tablas # 11 - 12 - 13 – 14 las mismas que cuentan con la regresión de superficies de respuesta de la optimización 1 en los tiempos 0 – 5 -10 -15 días.

Tabla 11 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cero días.

T=0
Bienvenido a Minitab, presioe F1 para obtener ayuda. Diseno de Box – Behnken Factores:3 Replicas:1

Corridas base:17 Total de corridas:17

Bloques base:1 Total de bloques: 1

Puntos centrales: 5

regresión de superficies de respuesta: t=0 vs. A, B, C

El analisis se realizó utilizando unidades codificadas

Coeficientes de regresion estimados de t=0

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	12800	2353	5.44	0.001
A	-3500	1860	-1.881	0.102
B	1500	1860	0.806	0.447
C	250	1860	0.134	0.897
A*A	975	2564	0.38	0.715
B*B	-2025	2564	-0.79	0.456
C*C	-2025	2564	-0.79	0.456
A*B	-2750	2631	-1.045	0.331
A*C	-3250	2631	-1.235	0.257
B*C	250	2631	0.095	0.927

S=5261.72 PRESS=1327875000

R-cuad. = 54.06% R-cuad.(pred.) = 0.00% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Analisis de varianzade t=0

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P

Regresion	9	228082353	228082353	25342484	0.92	0.56
Lineal	3	116500000	116500000	38833333	1.4	0.32
A	1	98000000	98000000	98000000	3.54	0.102
B	1	18000000	18000000	18000000	0.65	0.447
C	1	500000	500000	500000	0.02	0.897
Cuadrado	3	38832353	38832353	12944118	0.47	0.714
A*A	1	2382353	4002632	4002632	0.14	0.715
B*B	1	19184211	17265789	17265789	0.62	0.456
C*C	1	17265789	17265789	17265789	0.62	0.456
Interaccion	3	72750000	72750000	24250000	0.88	0.498
A*B	1	30250000	30250000	30250000	1.09	0.331
A*C	1	42250000	42250000	42250000	1.53	0.257
B*C	1	250000	250000	250000	0.01	0.927
Error residual	7	193800000	193800000	27685714		
Falta de ajuste	3	71000000	71000000	23666667	0.77	0.567
Error puro	4	122800000	122800000	30700000		
Total	16	421882353				

Coeficientes de regresion estimados de t=0 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef
Constante	12800
A	-3500
B	1500
C	250
A*A	975
B*B	-2025
C*C	-2025
A*B	-2750
A*C	-3250

B*C	250

Fuente: Software Minitab 15.

Tabla 12 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cinco días.

T=5

Regresion de superficies de respuesta: t=5 vs. A, B, C

El analisis se realizó utilizando unidades codificadas

Coeficientes de regresion estimados de t=5

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	11000	1533	7.176	0
A	-1250	1212	-1.031	0.337
B	1625	1212	1.341	0.222
C	625	1212	0.516	0.622
A*A	-5250	1671	-3.143	0.016
B*B	-2000	1671	-1.197	0.27
C*C	-4000	1671	-2.394	0.048
A*B	-1750	1714	-1.021	0.341
A*C	-750	1714	-0.438	0.675
B*C	2000	1714	1.167	0.281

S=3427.83 PRESS=161000000

R-cuad. = 77.74% R-cuad.(pred.) = 56.43% R-cuad.(ajustado) = 49.12%

Analisis de varianza de T=5

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresion	9	287279412	287279412	31919935	2.72	0.101
Lineal	3	36750000	36750000	12250000	1.04	0.431
A	1	12500000	12500000	12500000	1.06	0.337
B	1	21125000	21125000	21125000	1.8	0.222
C	1	3125000	3125000	3125000	0.27	0.622
Cuadrado	3	220029412	220029412	73343137	6.24	0.022
A*A	1	132029412	116052632	116052632	9.88	0.016
B*B	1	20631579	16842105	16842105	1.43	0.27
C*C	1	67368421	67368421	67368421	5.73	0.048
Interaccion	3	30500000	30500000	10166667	0.87	0.502
A*B	1	12250000	12250000	12250000	1.04	0.341
A*C	1	2250000	2250000	2250000	0.19	0.675
B*C	1	16000000	16000000	16000000	1.36	0.281
Error residual	7	82250000	82250000	11750000		
Falta de ajuste	3	2250000	2250000	750000	0.04	0.989
Error puro	4	80000000	80000000	20000000		
Total	16	369529412				

Coeficientes de regresion estimados de t=5 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef		
Constante	11000		
A	-1250		
B	1625		
C	625	b0	11000
A*A	-5250	b1	-1250

B*B	-2000	b3	625
C*C	-4000	b11	-5250
A*B	-1750	b33	-4000
A*C	-750		
B*C	2000		

Fuente: Software Minitab15.

Tabla 13 Regresión de superficies de respuesta con tiempo 10 días.

T=10

Regresion de superficies de respuesta: t=10 vs. A, B, C

El análisis se realizó utilizando unidades codificada codificadas

Coeficientes de regresión estimados de t=10

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	7200	1189.9	6.051	0.001
A	-1662	940.7	-1.767	0.121
B	175	940.7	0.186	0.858
C	-162.5	940.7	-0.173	0.868
A*A	-1062.5	1296.7	-0.819	0.44
B*B	-2887.5	1296.7	-2.227	0.061
C*C	-2212.5	1296.7	-1.706	0.132
A*B	-2250	1330.4	-1.691	0.135
A*C	2575	1330.4	1.936	0.094
B*C	-900	1330.4	-0.676	0.52

S=2660.76 PRESS=434870000

R-cuad. = 73.71% R-cuad.(pred.) = 0.00% R-cuad.(ajustado) = 39.91%

Análisis de varianza de T=10

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresió n	9	138962500	138962500	15440278	2.18	0.158
Lineal	3	22567500	22567500	7522500	1.06	0.424
A	1	22111250	22111250	22111250	3.12	0.121
B	1	245000	245000	245000	0.03	0.858
C	1	211250	211250	211250	0.03	0.868
Cuadrado	3	66382500	66382500	22127500	3.13	0.097
A*A	1	7671250	4753289	4753289	0.67	0.44
B*B	1	38100066	35105921	35105921	4.96	0.061
C*C	1	20611184	20611184	20611184	2.91	0.132
Interacción	3	50012500	50012500	16670833	2.35	0.158
A*B	1	20250000	20250000	20250000	2.86	0.135
A*C	1	26522500	26522500	26522500	3.75	0.094
B*C	1	3240000	3240000	3240000	0.46	0.52
Error residual	7	49557500	49557500	7079643		
Falta de ajuste	3	24757500	24757500	8252500	1.33	0.382
Error puro	4	24800000	24800000	6200000		
Total	16	188520000	188520000			

Coeficientes de regresion estimados de t=10 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef
Constante	7200
A	-1662.5
B	175

C	-162.5
A*A	-1062.5
B*B	-2887.5
C*C	-2212.5
A*B	-2250
A*C	2575
B*C	-900

Fuente: Software Minitab15.

Tabla 14 Regresión de superficies de respuesta con tiempo quince días.

T=15

Regresión de superficies de respuesta: t=15 vs. A, B, C

El análisis se realizó utilizando unidades codificadas

Coeficientes de regresión estimados de t=15

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	5600	1730	3.238	0.014
A	-1750	1367	-1.28	0.241
B	1250	1367	0.914	0.391
C	-250	1367	-0.183	0.86
A*A	-1550	1885	-0.822	0.438
B*B	-1050	1885	-0.557	0.595
C*C	-550	1885	-0.292	0.779
A*B	-2500	1934	-1.293	0.237
A*C	2500	1934	1.293	0.237
B*C	0	1934	0	1

S=3867.45 PRESS=647250000

R-cuad. = 50.09% R-cuad.(pred.) = 0.00% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Análisis de varianza de T=15

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresión	9	105064706	105064706	11673856	0.78	0.644
Lineal	3	37500000	37500000	12500000	0.84	0.516
A	1	24500000	24500000	24500000	1.64	0.241
B	1	12500000	12500000	12500000	0.84	0.391
C	1	500000	500000	500000	0.03	0.86
Cuadrado	3	17564706	17564706	5854902	0.39	0.763
A*A	1	11375817	10115789	10115789	0.68	0.438
B*B	1	4915205	4642105	4642105	0.31	0.595
C*C	1	1273684	1273684	1273684	0.09	0.779
Interaccion	3	50000000	50000000	16666667	1.11	0.406
A*B	1	25000000	25000000	25000000	1.67	0.237
A*C	1	25000000	25000000	25000000	1.67	0.237
B*C	1	0	0	0	0	1
Error residual	7	104700000	104700000	14957143		
Falta de ajuste	3	33500000	33500000	11166667	0.063	0.634
Error puro	4	71200000	71200000	17800000		
Total	16	209764706				

Coeficientes de regresión estimados de t=15 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef
Constante	5600

A	-1750
B	1250
C	-250
A*A	-1550
B*B	-1050
C*C	-550
A*B	-2500
A*C	2500
B*C	-4.73E-13

Fuente: Software Minitab15.

Luego de validar el modelo estadístico, se realizó un análisis de varianza ANOVA para las respuestas investigadas, verificando si las variables son significativas ($p<0.05$).

La significancia del modelo indica la concordancia entre los valores experimentales y los previstos para el modelo.

Los datos fueron procesados en el software Minitab 15, el cual permitió obtener un modelo de regresión para la predicción de la variable dependiente. En la tabla # 18 se evidencia los coeficientes de cada modelo con su respectivo valor de p, el cual deberá ser menor a 0.05 para que se considere coeficientes significativos del modelo.

Tabla 15 Coeficientes de regresión estimados en un tiempo de cinco días.

Coeficientes de regresión estimados de t=5 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef		
Constante	11000		
A	-1250		
B	1625		
C	625	b0	11000

A*A	-5250	b1	-1250
B*B	-2000	b3	625
C*C	-4000	b11	-5250
A*B	-1750	b33	-4000
A*C	-750		
B*C	2000		

Fuente: Minitab 15.

Para formar la ecuación que predice el tiempo de vida útil de la longaniza se tomó únicamente los coeficientes significativos que se encontraban por debajo del valor p>0.05.

Procedimiento para encontrar el punto óptimo del modelo.

$Y = 11000 - 1250A + 625C - 5250A^2 - 4000C^2$

$Y'A = 1250 - 2(5250A)$

$Y''A = -10500$

$Y'C = 625 - 2(4000C)$

$Y''C = -8000$

- **Matriz Hessiano**.

$$\begin{vmatrix} -10500 & 0 \\ 0 & -8000 \end{vmatrix}$$

DET=8.40 E+07

Como el determinante Hessiano es > 0 y el termino H11<0, el punto estacionario es un máximo.

- **Esquema gráfico de comportamiento de microorganismos vs el tiempo.**

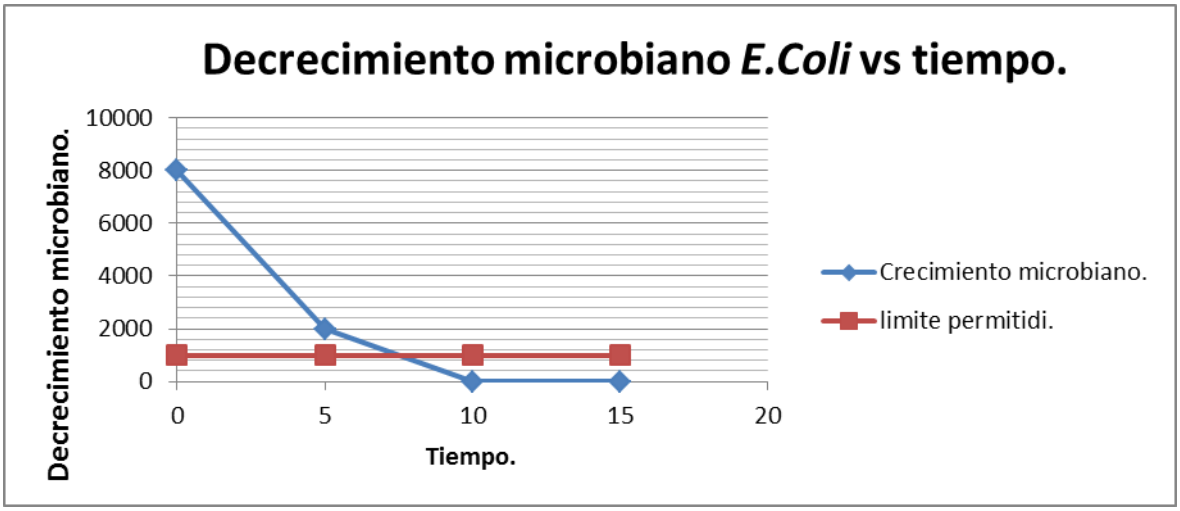


Figura 2 de mi autoría: Decrecimiento microbiano E. Coli vs tiempo.

- **Determinación concentraciones óptimas.**

  - **Ácido cítrico.**

$$1250 - 5500 Ac.Citrico = 0$$

$$Ac.Citrico = -1250/-10500$$

$$Acido\ citrico = 0.1190$$

$$\frac{0.605 - 0.495}{1} = \frac{X}{0.1190}$$

$$\frac{0.11}{1} = \frac{X}{0.1190}$$

$$Acido\ citrico = 0.11 * 0.1190 = 0.013$$

$$Acido\ citrico = 0.55 + 0.013 = 0.563$$

  - **Ácido acético.**

$$625 - 8000\ Acido\ acetico = 0$$

$$Acido\ acetico = -625/-8000$$

$$C = 0.0781$$

$$\frac{0.77 - 0.630}{1} = \frac{X}{0.0781}$$

$$\frac{0.14}{1} = \frac{X}{0.0781}$$

$$Acido\ acetico = 0.14 * 0.0781 = 0.0109$$

$$Acido\ acetico = 0.70 + 0.0109 = 0.7109$$

Por consiguiente las concentraciones óptimas que pretenden mejorar el tiempo de vida útil de la longaniza se detallan en la Tabla # 16.

Tabla 16 de mi autoría: Matriz de concentraciones optimas de optimización 1.

FACTORES.	ADITIVO.	CONCENTRACION.
A=X1=	AC.CITR	0.563
B=X2=	AC. LACT	1.5
C=X3=	AC.AC	0.710

- **Análisis microbiológico de la optimización.**

Para este fin se utilizó la metodología compact Dry, la misma que ayudará a determinar la cantidad de microorganismos presentes en el producto.

En la tabla # 16, la carga inicial con la que empieza el producto se encuentra dentro del limite maximo permitido por la NTE INEN 1 338 - 2012 y a medida que transcurre el tiempo va decreciendo.

Esto demuestra que la optimizacion fue favorable microbiologicamente ya que al cabo de 15 dias, que es el tiempo maximo al que se pretendia llegar los recuentos se encuntran todavia dentro de lo que permite NTE INEN 1 338 2012.

Tabla 17 de mi autoría: Recuento microbiológico optimización.

Recuento microbiologico UFC/g								
OPTIMIZACIÒN 1	Aureus	Dia 0	500	Dia 5	300	Dia 10	0	Dia 15	300
	E Coli		1000		300		0		0
	C.Toatales		8800		3000		1900		1800
	Aerobios		2.50E+06		5.00E+05		1.00E+06		2.00E+05

- **Análisis gráfico de comportamiento de microorganismo vs tiempo**.

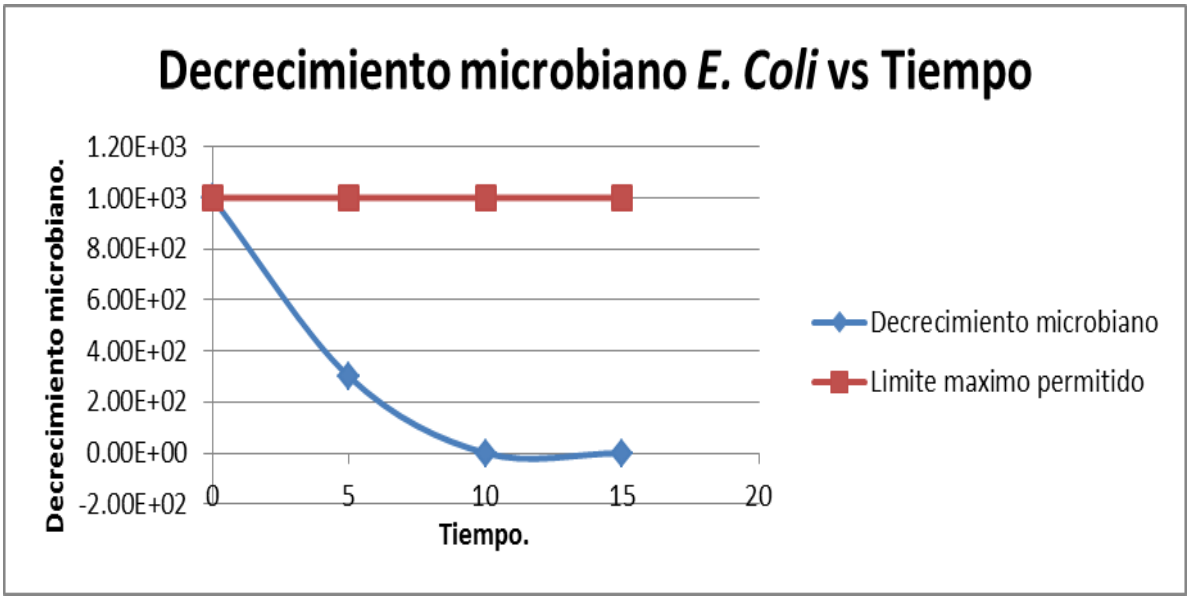


Figura 3 de mi autoría: Decrecimiento microbiano *E. Coli* vs tiempo de la optimización 1

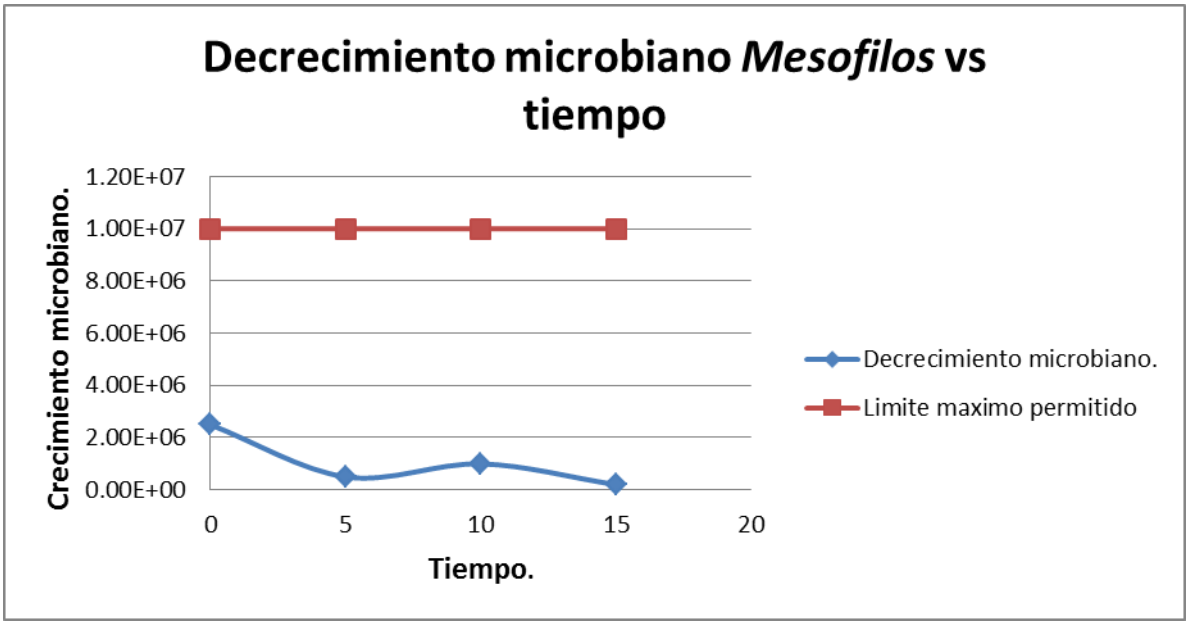


Figura 4 De mi autoría: Decrecimiento microbiano *Mesófilos aerobios* vs Tiempo de la optimización 1.

5.3.1.2 Coeficientes de regresión para optimización 2.

Para fines que pueda correr el programa estadístico, se colocó con el valor de cero todos los recuentos que se encuentren dentro de NTE INEN 1 338 2012.

Resultados de recuento microbiológico *Mesófilos aerobios* en longaniza.

Tabla 18 de mi autoría: Recuento de *Mesófilos aerobios* (UFC/g) en la longaniza.

MESÓFILOS.			
t=0	t=5	t=10	t=15
5.30E+06	3.60E+06	9.80E+06	1.80E+07
4.00E+06	3.00E+06	5.20E+07	9.30E+07
3.10E+06	6.50E+07	9.50E+07	1.33E+08
3.10E+06	2.90E+05	9.20E+07	9.30E+07
7.00E+06	4.00E+05	8.70E+07	1.10E+08
6.40E+06	4.00E+05	1.08E+06	1.17E+07
3.50E+06	1.00E+06	7.00E+06	1.19E+07
1.00E+07	6.50E+07	1.20E+08	1.19E+08
3.60E+06	9.50E+07	8.80E+07	1.00E+08
1.70E+06	5.00E+06	1.18E+08	1.28E+08
6.90E+06	4.10E+07	9.10E+07	1.00E+08
1.30E+06	9.90E+07	9.40E+07	1.15E+08
1.70E+06	6.00E+06	1.10E+07	1.70E+07
1.50E+07	6.70E+07	9.80E+07	1.23E+08
3.60E+06	1.00E+06	9.90E+07	1.28E+08
6.00E+06	1.00E+06	9.20E+07	1.25E+08
2.30E+06	1.00E+06	1.13E+08	1.11E+08

- **Reemplazo de valores que se encuentran dentro de norma por valor cero.**

Tabla 19 de mi autoría: Matriz de recuento de *Mesófilos aerobios* con valores cero.

MESÓFILOS.			
t=0	t=5	t=10	t=15
0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.80E+07
0.00E+00	0.00E+00	5.20E+07	9.30E+07
0.00E+00	6.50E+07	9.50E+07	1.33E+08
0.00E+00	0.00E+00	9.20E+07	9.30E+07
0.00E+00	0.00E+00	8.70E+07	1.10E+08
0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.17E+07
0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.19E+07
1.00E+07	6.50E+07	1.20E+08	1.19E+08
0.00E+00	9.50E+07	8.80E+07	1.00E+08
0.00E+00	0.00E+00	1.18E+08	1.28E+08
0.00E+00	4.10E+07	9.10E+07	1.00E+08
0.00E+00	9.90E+07	9.40E+07	1.15E+08
0.00E+00	0.00E+00	1.10E+07	1.70E+07
1.50E+07	0.00E+00	9.80E+07	1.23E+08
0.00E+00	0.00E+00	9.90E+07	1.28E+08
0.00E+00	0.00E+00	9.20E+07	1.25E+08
0.00E+00	0.00E+00	1.13E+08	1.11E+08

A continuación se presenta las tablas # 20 - 21 - 22 - 23 las mismas que cuentan con la regresión de superficies de respuesta de la optimización 2 en los tiempos 0 - 5 -10 -15.

Tabla 20 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cero días.

T=0

Bienvenido a Minitab, presioe F1 para obtener ayuda.

Diseno de Box - Behnken

Factores:3	Replicas:1
Corridas base:17	Total de corridas:17
Bloques base:1	Total de bloques: 1

Puntos centrales: 5

Regresión de superficies de respuesta: t=0 vs. A, B, C

El análisis se realizó utilizando unidades codificadas

Coeficientes de regresión estimados de t=0

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	3000000	2420153	1.24	0.255
A	1250000	1913299	0.653	0.534
B	0	1913299	0	1
C	1250000	1913299	0	1
A*A	-250000	2637301	-0.095	0.927
B*B	-2750000	2637301	-1.043	0.332
C*C	-250000	2637301	-0.095	0.927
A*B	0	2705814	0	1
A*C	2500000	2705814	0.924	0.386
B*C	0	2705814	0	1

S=5411628 PRESS=6.812500E+14

R-cuad. = 28.88% R-cuad.(pred.) = 0.00% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Análisis de varianzade t=0

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresón	9	8.32E+13	8.32E+13	9.25E+12	0.32	0.944
Lineal	3	2.50E+13	2.50E+13	8.33E+12	0.28	0.835
A	1	1.25E+13	1.25E+13	1.25E+13	0.43	0.534
B	1	0.00	0.00	0	0	1.00
C	1	1.25E+13	1.25E+13	1.25E+13	4.30E-01	0.534
Cuadrado	3	3.32E+13	3.32E+13	1.11E+13	0.38	0.772
A*A	1	7.35E+11	2.63E+11	2.63E+11	0.01	0.927
B*B	1	3.22E+13	3.18E+13	3.18E+13	1.09	0.332
C*C	1	2.63E+11	2.63E+11	2.63E+11	0.01	0.927
Interaccion	3	2.50E+13	2.50E+13	8.33E+12	0.28	0.835
A*B	1	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
A*C	1	2.50E+13	2.50E+13	2.50E+13	0.85	0.386
B*C	1	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
Error residual	7	2.05E+14	2.05E+14	2.93E+13		
Falta de ajuste	3	2.50E+13	2.50E+13	8.33E+12	0.19	0.901
Error puro	4	1.80E+14	1.80E+14	4.50E+13		
Total	16	2.88E+14				

Coeficientes de regresión estimados de t=0 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef

Constante	3000000
A	1250000
B	1.46E-10
C	1250000
A*A	-250000
B*B	-2750000
C*C	-250000
A*B	-5.29E-11
A*C	2500000
B*C	2.90339E-10

Fuente: Minitab 15.

Tabla 21 Regresión de superficies de respuesta con tiempo cinco días.

T=5

Regresión de superficies de respuesta: t=5 vs. A, B, C

El análisis se realizó utilizando unidades codificadas

Coeficientes de regresión estimados de t=5

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	0	9947002	0	1
A	0	7863796	0	1
B	3500000	7863796	0.445	0.67
C	13750000	7863796	1.749	0.124
A*A	-13125000	10839495	-1.211	0.265
B*B	29375000	10839495	2.71	0.03
C*C	29375000	10839495	2.71	0.03
A*B	-16250000	11121087	-1.461	0.187
A*C	16250000	11121087	1.461	0.187
B*C	38250000	11121087	3.439	0.011

S=22242174 PRESS=5.540800E+16

R-cuad. = 83.60% R-cuad.(pred.) = 0.00% R-cuad.(ajustado) = 62.52%

Análisis de varianzade t=0

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresion	9	1.77E+16	1.77E+16	1.96E+15	3.97E+00	0.041
Lineal	3	1.61E+15	1.61E+15	1.96E+15	1.09E+00	0.416
A	1	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	0.00	1
B	1	9.80E+13	9.80E+13	9.80E+13	2.00E-01	0.67
C	1	1.51E+15	1.51E+15	1.51E+15	3.06E+00	0.124
Cuadrado	3	8.08E+15	8.08E+15	2.69E+15	5.45E+00	0.03
A*A	1	4.12E+14	7.25E+14	7.25E+14	1.47E+00	0.265
B*B	1	4.04E+15	3.63E+15	3.63E+15	7.34E+00	0.03
C*C	1	3.63E+15	3.63E+15	3.63E+15	7.34	0.03
Interaccion	3	7.96E+15	7.96E+15	7.96E+15	5.37E+00	0.031
A*B	1	1.06E+15	1.06E+15	1.06E+15	2.14	0.19
A*C	1	1.06E+15	1.06E+15	1.06E+15	2.14	0.187
B*C	1	5.85E+15	5.85E+15	5.85E+15	11.83	0.01
Error residual	7	3.46E+15	3.46E+15	4.95E+14		
Falta de ajuste	3	3.46E+15	3.46E+15	1.15E+15		
Error puro	4	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00		
Total	16	2.11E+16				

Coeficientes de regresión estimados de t=5 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef
Constante	1.86E-09
A	4.07E-09
B	3.50E+06

C	13750000
A*A	-1.31E+07
B*B	2.94E+07
C*C	2.94E+07
A*B	-1.26E+08
A*C	1.63E+08
B*C	3.52850E+04

Fuente: Minitab 15.

Tabla 22 Regresión de superficies de respuesta con tiempo diez días.

T=10

Regresión de superficies de respuesta: t=10 vs. A, B, C

El análisis se realizó utilizando unidades codificadas

Coeficientes de regresión estimados de t=10

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	82600000	15438542	5.35	0.001
A	10250000	12205239	0.84	0.429
B	21000000	12205239	1.721	0.129
C	1500000	12205239	0.123	0.906
A*A	-34425000	16823761	-2.046	0.08
B*B	11575000	16823761	0.688	0.514
C*C	3575000	16823761	0.212	0.838
A*B	-13750000	17260814	-0.797	0.452
A*C	51750000	17260814	2.998	0.02
B*C	-6750000	17260814	-0.391	0.707

S=34521629 PRESS=3.753512E+16

R-cuad. = 72.00% R-cuad.(pred.) = 0.00% R-cuad.(ajustado) = 36.00%

Análisis de varianzade t=0

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresion	9	2.15E+16	2.15E+16	2.38E+15	2.00	0.186
Lineal	3	4.39E+15	4.39E+15	1.46E+15	1.23	0.369
A	1	8.41E+14	8.41E+14	8.41E+14	0.71	0.429
B	1	3.53E+15	3.53E+15	3.53E+15	2.96	0.13
C	1	1.80E+13	1.80E+13	1.80E+13	0.02	0.906
Cuadrado	3	5.41E+15	5.41E+15	1.80E+15	1.51	0.292
A*A	1	4.78E+15	4.99E+15	4.99E+15	4.19	0.08
B*B	1	5.84E+14	5.64E+14	5.64E+14	0.47	0.514
C*C	1	5.38E+13	5.38E+13	5.38E+13	0.05	0.838
Interaccion	3	1.17E+16	1.17E+16	3.88E+15	3.26	0.09
A*B	1	7.56E+14	7.56E+14	7.56E+14	0.63	0.45
A*C	1	1.07E+16	1.07E+16	1.07E+16	8.99	0.02
B*C	1	1.82E+14	1.82E+14	1.82E+14	0.15	0.71
Error residual	7	8.34E+15	8.34E+15	1.19E+15		
Falta de ajuste	3	1.70E+15	1.70E+15	1.19E+15	0.34	0.799
Error puro	4	6.65E+15	6.65E+15	1.66E+15		
Total	16	2.98E+16				

Coeficientes de regresión estimados de t=10 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef		
Constante	82600000	B0	8.26E+07
A	10250000	B1	1.03E+07
B	21000000		
C	1500000	B2	1.50E+06
A*A	-34425000	B3	-3.44E+07
B*B	11575000		
C*C	3575000		
A*B	-13750000		
A*C	51750000	B4	5.18E+07
B*C	-6750000		

Fuente: Minitab 15.

Tabla 23 Regresión de superficies de respuesta con tiempo quince días.

t=15

Regresión de superficies de respuesta: t=15 vs. A, B, C

Coeficientes de regresión estimados de t=15

Termino	Coef	coef.	T	P
Constante	100800000	16682078	6.042	0.001
A	5475000	13188340	0.415	0.69
B	19750000	13188340	1.498	0.178
C	-475000	13188340	-0.036	0.972
A*A	-320750000	18178873	-1.764	0.121
B*B	15525000	18178873	0.854	0.421
C*C	-5575000	18178873	-0.307	0.768
A*B	-28750000	18651130	-1.541	0.167
A*C	51350000	18651130	2.753	0.028
B*C	-3250000	18651130	-0.174	0.867

PRESS= 2.670281E+16

S= 37302260

R-cuad. = 69.86% R-cuad.(pred.) = 17.37% R-cuad.(ajustado) = 31.11%

Analisis de varianzade t=0

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
	9	2.26E+16	2.26E+16	2.51E+15	1.80E+00	0.225

Regresion						
Lineal	3	3.36E+15	3.36E+15	1.12E+15	8.10E-01	0.53
A	1	2.40E+14	2.40E+14	2.40E+14	0.17	0.69
B	1	3.12E+15	3.12E+15	3.12E+15	2.24	0.18
C	1	1.81E+12	1.81E+12	1.81E+12	0.00E+00	0.972
Cuadrado	3	5.32E+15	5.32E+15	1.77E+15	1.27E+00	0.355
A*A	1	4.21E+15	4.33E+15	4.33E+15	3.11E+00	0.121
B*B	1	9.80E+14	1.01E+15	1.01E+15	7.30E-01	0.421
C*C	1	1.31E+14	1.31E+14	1.31E+14	0.09	0.768
Interaccion	3	1.39E+16	1.39E+16	4.63E+15	3.33E+00	0.086
A*B	1	3.31E+15	3.31E+15	3.31E+15	2.38	0.17
A*C	1	1.05E+16	1.05E+16	1.05E+16	7.58	0.028
B*C	1	4.23E+13	4.23E+13	4.23E+13	0.03	0.87
Error residual	7	9.74E+15	9.74E+15	1.39E+15		
Falta de ajuste	3	7.95E+14	7.95E+14	2.65E+14	0.12	0.945
Error puro	4	8.94E+15	8.94E+15	2.24E+15		
Total	16	3.23E+16				

Coeficientes de regresión estimados de t=15 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef
Constante	1.01E+08
A	5.48E+06
B	1.98E+07
C	-4.75E+05
A*A	-3.21E+07
B*B	1.55E+07
C*C	-5.58E+06
A*B	-2.88E+07
A*C	5.14E+07
B*C	##########

Fuente: Minitab 15.

De la misma manera que se realizó con la optimización 1 se procedió con la optimización 2 realizando análisis de varianza, el cual nos permitió verificar si las variables son significativas ($p<0.05$).

En la tabla # 24 se presenta los coeficientes de cada modelo con su respectivo valor de p, el cual deberá ser menor a 0.05 para considerarlo como coeficientes significativos del modelo.

Tabla 24 Coeficientes de regresión estimados en un tiempo de diez días.

Análisis de varianza de t=10						
Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust	MC Ajust	F	P
Regresion	9	2.15E+16	2.15E+16	2.38E+15	2.00	0.186
Lineal	3	4.39E+15	4.39E+15	1.46E+15	1.23	0.369
A	1	8.41E+14	8.41E+14	8.41E+14	0.71	0.429
B	1	3.53E+15	3.53E+15	3.53E+15	2.96	0.13
C	1	1.80E+13	1.80E+13	1.80E+13	0.02	0.906
Cuadrado	3	5.41E+15	5.41E+15	1.80E+15	1.51	0.292
A*A	1	4.78E+15	4.99E+15	4.99E+15	4.19	0.08
B*B	1	5.84E+14	5.64E+14	5.64E+14	0.47	0.514
C*C	1	5.38E+13	5.38E+13	5.38E+13	0.05	0.838
Interaccion	3	1.17E+16	1.17E+16	3.88E+15	3.26	0.09
A*B	1	7.56E+14	7.56E+14	7.56E+14	0.63	0.45
A*C	1	1.07E+16	1.07E+16	1.07E+16	8.99	0.02
B*C	1	1.82E+14	1.82E+14	1.82E+14	0.15	0.71
Error residual	7	8.34E+15	8.34E+15	1.19E+15		
Falta de	3	1.70E+15	1.70E+15	1.19E+15	0.34	0.799

ajuste				
Error puro	4	6.65E+15	6.65E+15	1.66E+15
Total	16	2.98E+16		

Coeficientes de regresion estimados de t=10 utilizando datos en unidades no codificadas

Termino	Coef		
Constante	82600000	B0	8.26E+07
A	10250000	B1	1.03E+07
B	21000000		
C	1500000	B2	1.50E+06
	-		
A*A	34425000	B3	-3.44E+07
B*B	11575000		
C*C	3575000		
	-		
A*B	13750000		
A*C	51750000	B4	5.18E+07
B*C	-6750000		

Fuente: Software Minitab 15.

Para la formación de la ecuación que predice el tiempo de vida útil de la longaniza se tomó únicamente los coeficientes significativos que se encontraban por debajo del valor $p < 0.05$

Procedimiento para encontrar el punto óptimo del modelo.

$$Y = 8.26E^7 + 1.03E^7A - 3.44E^7A^2 + 1.5E^6C + 5.18E^7AC$$

$$Y'A = 1.03E^7 - 6.89E^7A + 5.18E^7C$$

$$Y''A = -6.89E^7$$

$$Y'C = 1.5E^6 + 5.18E^7A$$

$$Y''C = 5.18E^7$$

- **Matriz Hessiano**

$$\begin{vmatrix} -6.89E{+}07 & 0 \\ 0 & -5.18E{+}07 \end{vmatrix}$$

DET= -3.56902E+15

Como el determinante Hessiano es < 0 y el termino H11<0, el punto estacionario es un mínimo.

- **Esquema gráfico comportamiento microorganismos vs el tiempo.**

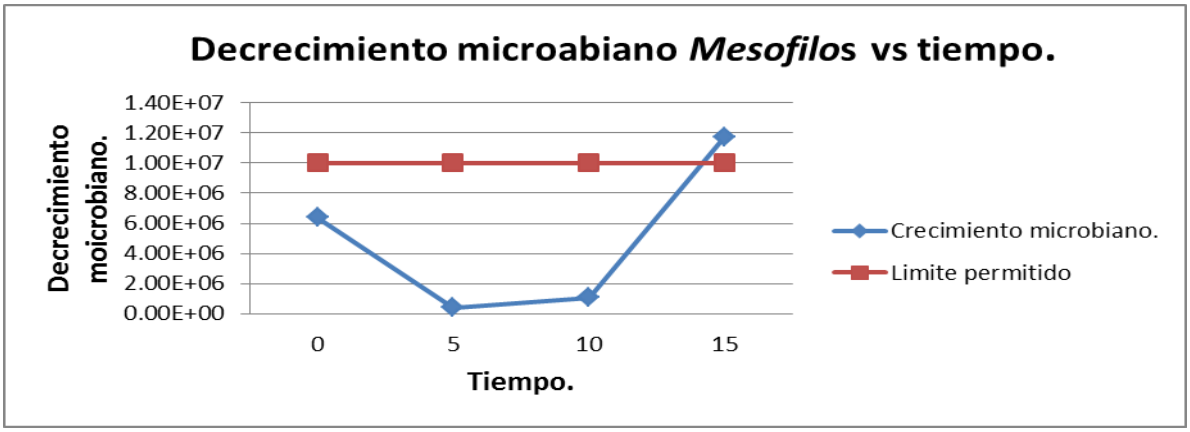


Figura 5 de mi autoría: Decrecimiento microbiano *Mesófilos aerobios* vs tiempo.

En el gráfico antepuesto se evidencia que el crecimiento microbiano tiene una etapa lógica de decrecimiento en los primeros días de elaborado y que al paso del tiempo nuevamente empieza con el proceso de proliferación.

- **Determinación concentraciones óptimas.**

  - **Ácido cítrico.**

$$1.5E^{06} + 5.18E^7 Ac.Citrico = 0$$

$$Ac.Citrico = \frac{1.5E^{06}}{5.18E^7}$$

$$Acido\ citrico = -2.9E^{-2}$$

$$\frac{0.605 - 0.495}{1} = \frac{X}{0.1190}$$

$$\frac{0.11}{1} = \frac{X}{-0.029}$$

$$Acido\ citrico = 0.11 * -0.029 = -0.00319$$

$$Acido\ citrico = 0.55 - 0.00319 = 0.5468$$

- **Ácido acético**.

$$1.03E^7 - 6.89E^7(-2.9E^{-2}) + 5.18E^7C = 0$$

$$1.03E^7 + 2E^6 + 5.18E^7C = 0$$

$$1.23E^7 = -5.18E^7C$$

$$C = \frac{1.23E^7}{-5.18E^7}$$

$$C = -2.37E^{-1}$$

$$\frac{0.77 - 0.63}{1} = \frac{X}{0.0781}$$

$$\frac{0.14}{1} = \frac{X}{-0.237}$$

$$Acido\ acetico = 0.14 * -0.237 = 0.033$$

$$Acido\ acetico = 0.70 + 0.033 = 0.7331$$

Por consiguiente las concentraciones óptimas que pretenden mejorar el tiempo de vida útil de la longaniza se detallan en la tabla # 25.

Tabla 25 de mi autoría: Matriz de concentraciones optimas de optimización 2.

FACTORES.	ADITIVO.	CONCENTRACION.
A=X1=	AC.CITR	0.546
B=X2=	AC. LACT	1.5
C=X3=	AC.AC	0.733

- **Análisis microbiológico de la optimización 2.**

De la misma forma que la optimización 1, claramente se evidencia mejoras en los resultados microbiológicos en sus 15 de días de tiempo de vida útil.

Cabe acotar que en comparación con la optimización 1 se evidencia que este no fue tan efectivo contra microorganismos patógenos.

Tabla 26 de mi autoría: Recuento microbiológico optimización 2.

OPTIMIZACIÒN 2.	Aureus	Dia 0	400	Dia 5	300	Dia 10	200	Dia 15	200
	E Coli		3000		800		300		100
	C.Toatales		23000		5000		5000		11000
	Aerobios		2.00E+05		4.10E+06		1.90E+06		8.00E+05

- **Esquema gráfico comportamiento microorganismos vs tiempo.**

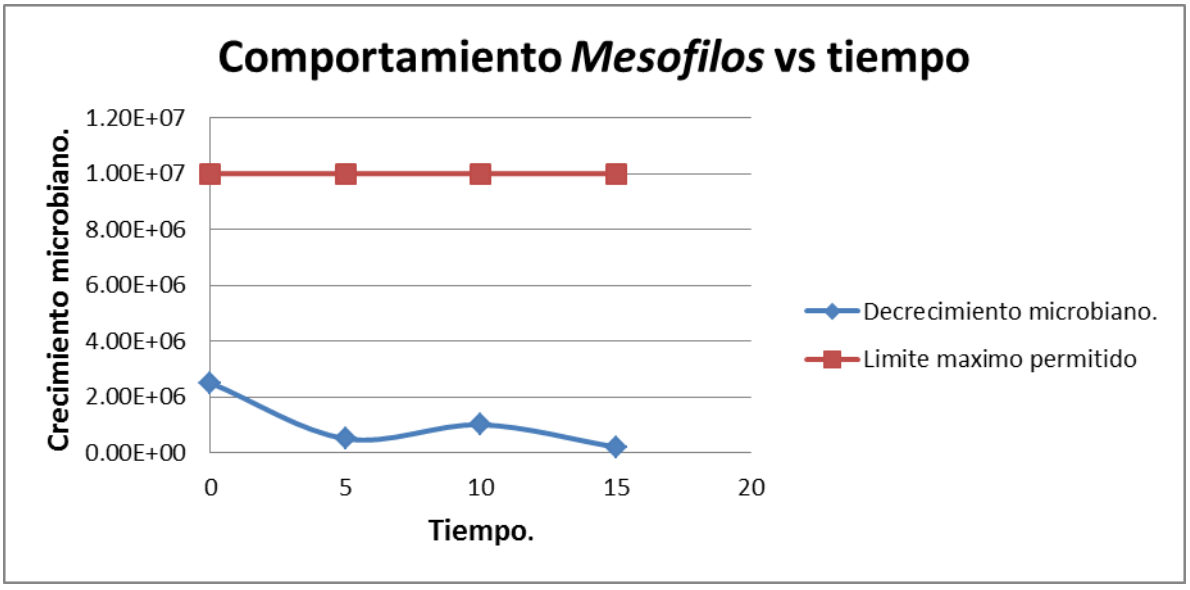


Figura 6 de mi autoría Decrecimiento microbiano *Mesófilos aerobios* vs Tiempo en la optimización 2.

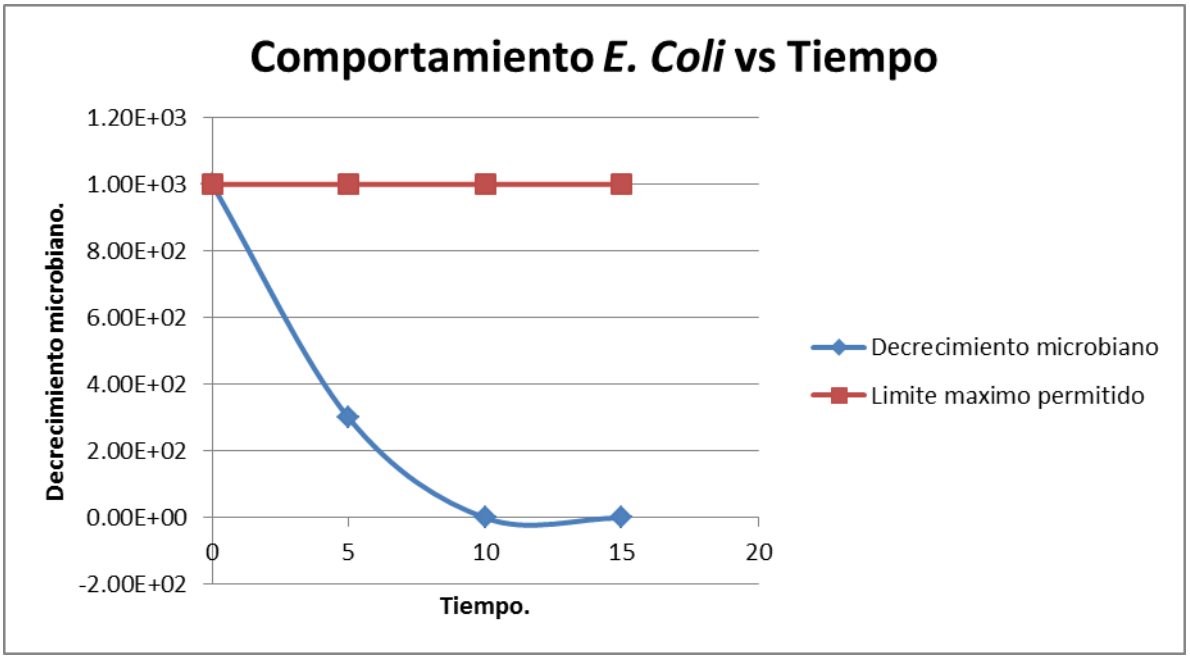


Figura 7 de mi autoría: Decrecimiento microbiano *E. Coli* vs Tiempo en optimización 2.

5.4 Análisis sensorial.

Una vez que la longaniza haya tenido todo el proceso de: elaboración, empacado y almacenado se procedió a realizar análisis sensorial de las optimizaciones 1, 2 y la que actualmente se encuentra comercializando Italimentos Cia Ltda. Estas se realizaron a 8 personas cada cinco días empezando por el día cero. Obteniendo los siguientes datos:

- **Resultado análisis sensorial día 0.**

Tabla 27 de mi autoría: Resultados cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo cero días.

LONGANIZA.	DIA 0			
	OLOR	SABOR	TEXTURA	COLOR
BLANCO	2	3	3	3
	1	2	3	1

	2	3	2	2
	2	2	1	1
	3	3	3	3
	2	2	2	2
	2	2	2	3
	2	3	1	2
OPTIMIZACIÓN 1	3	2	3	3
	3	3	2	2
	1	2	3	3
	1	1	2	2
	2	2	2	2
	1	1	1	1
	2	2	1	2
	2	2	1	3
OPTIMIZACIÓN 2.	3	3	1	2
	2	2	2	2
	3	3	2	3
	3	3	1	3
	2	3	1	2
	2	3	2	2
	1	2	2	2
	2	2	2	3

- **Análisis sensorial día 5.**

Tabla 28 Resultados de cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo cinco días.

LONGANIZA.	DIA 5.			
	OLOR	SABOR	TEXTURA	COLOR
BLANCO	2	2	2	2
	1	2	2	2
	2	3	1	2
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	2	2	2	2
	1	1	1	2
	3	2	2	2
OPTIMIZACION 1	2	1	2	1
	2	2	3	2
	2	2	2	2
	2	3	3	3
	2	1	1	3
	1	1	1	1
	2	2	1	3
	2	2	1	3
OPTIMIZACION 2	2	2	2	3
	1	1	1	2
	2	2	2	3
	3	3	2	2
	2	2	3	2
	2	1	1	2
	3	2	3	3
	2	2	1	1

- **Análisis sensorial día 10.**

Tabla 29 de mi autoría: Resultados de cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo diez días.

LONGANIZA.	DIA 10			
	OLOR	SABOR	TEXTURA	COLOR
BLANCO	2	3	3	3
	3	2	2	3
	2	3	2	3
	2	2	1	2
	1	2	2	2
	2	1	1	2
	2	1	1	2
	2	1	1	2
OPTIMIZACION 1	3	2	2	3
	3	1	3	2
	2	3	3	3
	2	2	2	2
	2	2	2	3
	3	2	1	2
	2	2	2	2
	2	2	1	2
OPTIMIZACION 2	1	1	2	2
	2	2	3	3
	2	3	2	2
	3	2	1	2

	3	2	2	2
	2	2	2	2
	1	2	2	2
	1	2	1	3

- **Análisis sensorial día 15**.

Tabla 30 de mi autoría: Resultados de cataciones de optimización 1, 2 y patrón en tiempo quince días.

LONGANIZA.	OLOR	SABOR	TEXTURA	COLOR
	10/13/2014			
BLANCO	3	3	2	3
	1	1	1	2
	1	1	1	1
	2	1	1	2
	2	2	2	3
	3	2	2	2
	2	2	1	1
	1	2	2	2
OPTIMIZACION 1	3	3	3	2
	2	1	1	2
	2	3	2	2
	3	2	1	2
	1	1	1	2
	2	2	1	3
	2	3	1	2
	2	2	1	2
OPTIMIZACION 2	3	3	2	2
	2	2	2	2
	3	2	2	2
	2	2	2	1
	1	1	1	1

	2	2	1	2
	2	3	1	2
	2	1	1	2

5.4.1 Determinación análisis de varianza.

Clasificación multivariante

Método del DISCRIMINANTE LINEAL

Cross-validated Misclassification Matrix

True Class	Total	Clases asignadas.		
		1	2	3
1	8	3	1	4
		0.375	0.125	0.5
2	8	0	5	3
		0	0.625	0.375
3	8	3	3	2
		0.375	0.375	0.25

Cross-validated Error Rate: 0.5833

Cross-validated Risk: 0.5833

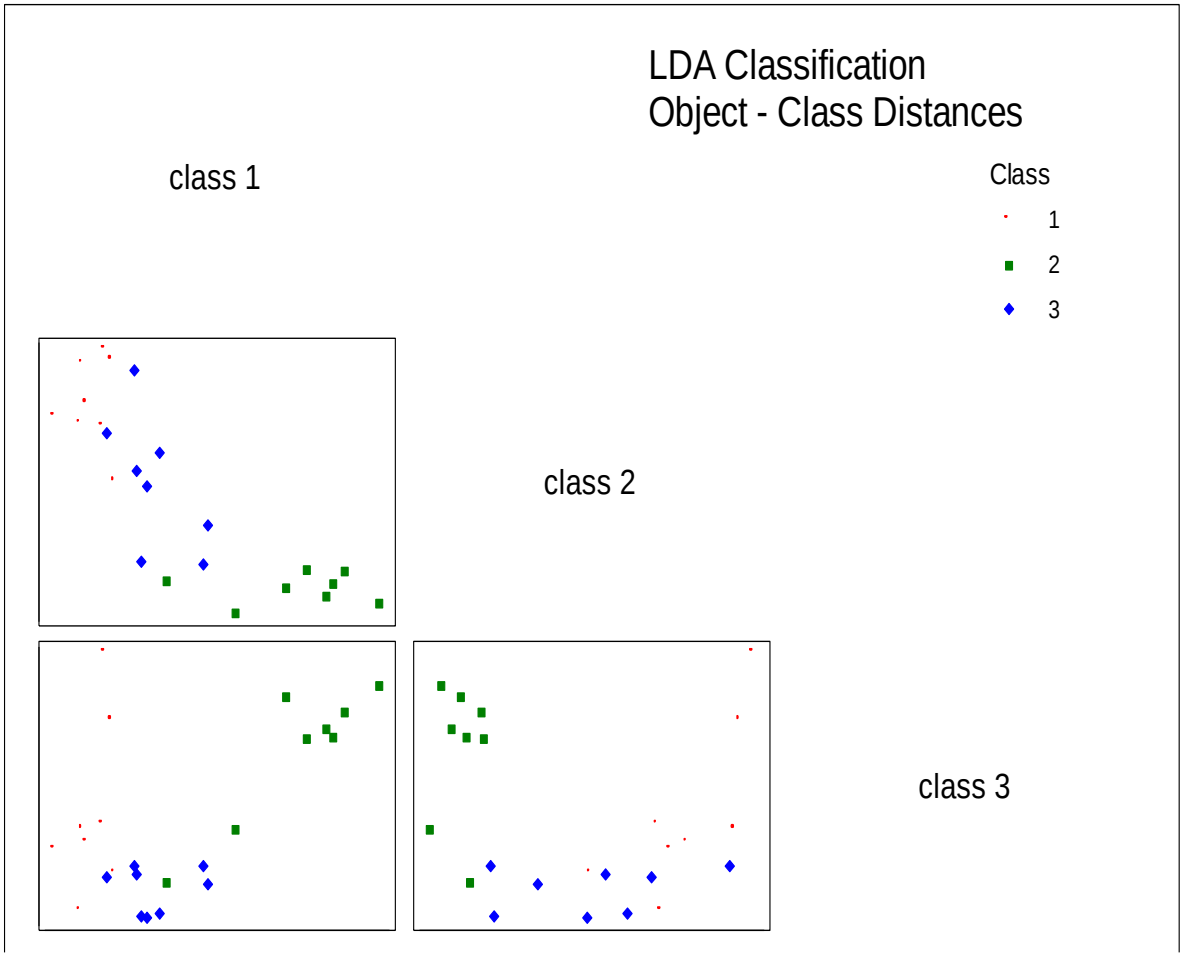


Figura 8 Interpretación grafica análisis discriminante lineal.

Fuente: Scan.

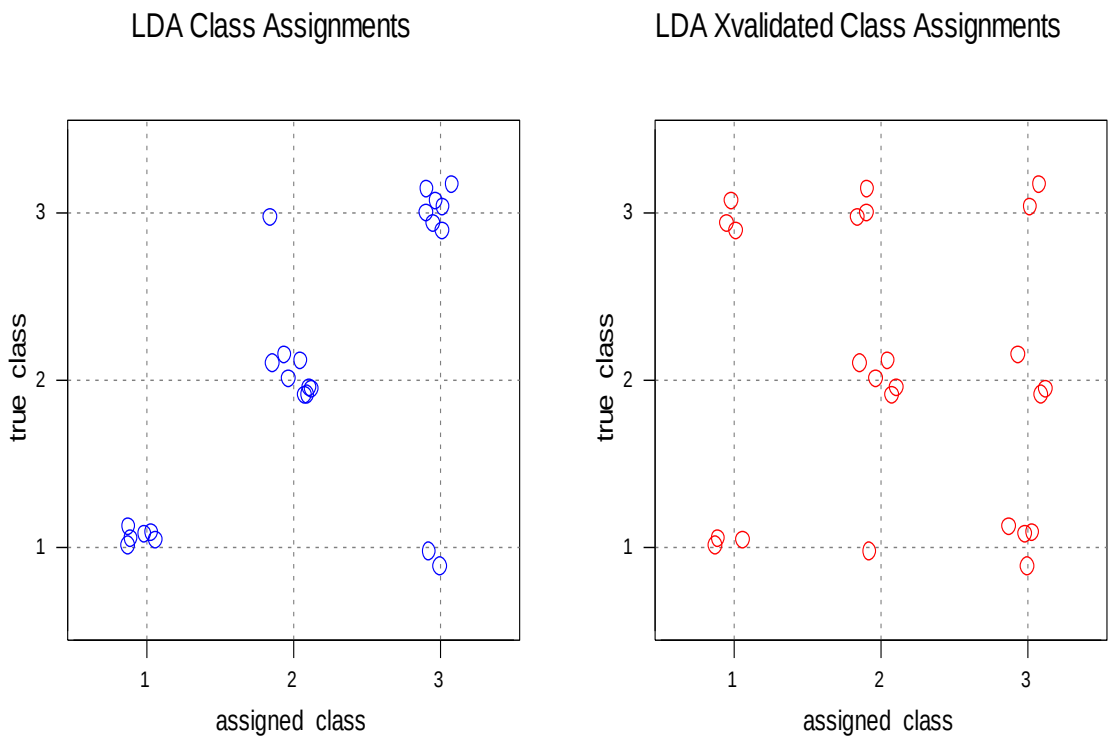


Figura 9 Interpretación grafica análisis discriminante lineal validado.

Fuente: Scan.

Interpretación:

Luego de realizado el análisis de varianza de los datos obtenidos en la cataciones, claramente se evidencia en los gráficos antes expuestos que al realizar la validación los valores sufren una desintegración parcial indicando que no existe cambios significativos en las características organolépticas del producto.

Además el error que genera la validación es de un 58% con lo que confirmamos lo que se evidencia en los gráficos.

CONCLUSIONES.

Al término del presente estudio se concluyó lo siguiente:

- Una de las principales causas por la que se deteriora los embutidos y el factor que limita la vida de estante es la calidad de sus materias primas ya que realizando análisis microbiológico de cada uno de los experimentos se evidencio que la carga microbiana de la longaniza al inicio de su tiempo de vida útil se encontraba fuera de los limites permitido por NTE INEN 1 338 – 2012.

- El ácido que mayor eficiencia tuvo frente a microorganismos patógenos fue el láctico ya que claramente se evidenció en el análisis se varianza que nunca presento valores de correlación significativos ($p<0.05$).

- La optimización que mayor rédito tuvo frente a los microorganismos causantes del deterioro del tiempo de vida útil fue: Ácido cítrico 20.3 %, Ácido Láctico 54.1% y Ácido acético 25.6%.

- Los microorganismos como: *Aerobios mésofilos*, *Coliformes totales*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus* presentes en la longainza una vez aplicadas las concentraciones optimas de la mezcla y mejorando la calidad de las materias primas cárnicas presentó valores considerados como aceptables según NTE INEN 1 338 hasta 15 días después de su elaboración. Hecho que es muy favorable ya que se aumentó el tiempo de vida útil en un 50%.

- Las pruebas de tipo hedónicas que se realizó a las optimizaciones dieron como resultado un error del 58% es decir existió una distancia significativa entre punto y punto provocando visualmente una desintegración parcial de sus valores, esto indica que no existe cambios significativos en las características organolépticas del producto comparando con el que actualmente se encuentra comercializando Italimentos Cia Ltda.

- La mezcla de ácidos orgánicos desarrollada resultó exitosa ya que al final de trabajo se logró aumentar el tiempo de vida útil de la longaniza en un 50% y no afectar las características organolépticas del producto, que fueron los principales objetivos de este estudio.

RECOMENDACIONES.

- Realizar un estudio de costos, para verificar industrialmente que tan rentable resulta elaborar este conservante.

- Implementar un control mucho más efectivo de las materias primas cárnicas utilizadas en la elaboración de este tipo de alimentos.

- Verificar que tan efectivo es la limpieza y desinfección de todas las superficies que entran en contacto con los alimentos.

- Capacitar en temas de seguridad alimentaria tanto a proveedores como personal encargado de la recepción de materia prima cárnica.

- Capacitar al personal encargado de limpieza y desinfección de superficies que entran en contacto con los alimentos.

- Realizar ensayos de la mezcla idónea en productos cocidos, ahumados, con el fin de determinar qué efectos tiene en este tipo de alimentos.

BIBLIOGRAFIA.

ADAMS, M. y Moss, M. (2005) Microbiología de los alimentos, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza -España.

BADUI, S. (s.a.p.) Química de los Alimentos, 2da Edición. Editorial Pearson Addison Wesley: México.

BOLUMEN, S. (2005). Instituto de investigaciones para la industria alimenticia. Vida útil de los alimentos envasados. Colombia: El Instituto.

BLANCO, G. Herryman, M. (2008) Evaluación exploratoria de la producción de ácido cítrico. Panorámica mundial y en Cuba, Dpto. de Evaluación Económica, ICIDCA, Doc. Interno.

DIN Deutsches Institut Fur Normung e.V. (s.a.p.) Mikrobiolo gische Milchuntersuchung. Nachweis von Salmonellen. Referenzverfahren.- DIN10181(s.e.) (s.l.p.).

FENNEMA, O. (2010). Química de los alimentos, 3ra Edición. Editorial Acribia: Zaragoza.

FORREST, J. (2006). Meat spoilage, meat safety and quality. University of purdue. Animal sciences departament.

http: //ag.ansc.purdue.edu/meat _quality/ ageing_ meat. Html.

GÁMBARO, Adriana (2005). Estimación de vida útil sensorial de alimentos, España, 2005.

GAUTHIER, R. (s.a. p.) La salud intestinal: Clave de la Productividad – El caso de los Ácidos Orgánicos (Jefo Nutrition Inc.). St-hyacinthe, Qc, Canada.

GUTIERREZ, H y DE LA VARA, R.(s.a.p.) Análisis y diseño de experimentos, 2da Edición. Editorial McGRAW-HILL: México.

HOUGH, G. y FISZMAN, S. (2005) Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Madrid, España: Programa CYTED (ed.)

HYSERVE GmbH & Co.KG, Hechenrainerstr,(s.a.p.) Compact% 20Dry% 20PI , Alemania.

http://www.hyserve.com/files/Compact%20Dry%20PI_ETB-version%2003-10-920pcs.pdf

IBAÑEZ, F. TORRE, P. y IRIGOYEN, A. (2003) Aditivos alimentarios. Universidad pública de Navarra.

http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/Funcionales/aditivos.pdf

INTERNATIONAL Organization for Standardization (.s.a.p.), Meat and meat products – Detection for salmonellae (Reference method). International Standard ISO 3565., (s.l.p.)

I.P.F Ingredientes y productos funcionales S.A, Estudio de lavida útil de los alimentos y bebidas.Pdf. Disponible en: http://www.ipf.com.co/es/?option=com_content&view=article&id=208:estudio-de-la-vida-util-de-alimentos-y-bebidas&catid=1:latest-news&Itemid=83&lang=es%29.

JARAMILLO, A. (2011)Evaluación de la mezcla de un prebiótico y un ácido orgánico en la salud intestinal y parámetros productivos de pollos de engorde. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Facultad de Ciencias agropecuarias Universidad del Tolima-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ibagué.

JAY, J. (2000) Microbiología de los Alimentos, 4ta Edición. Editorial Acribia S.A: España. Pág. 366 - 368

LÓPEZ, C. (2010) Efecto del uso de los Ácidos Orgánicos en la Nutrición de Aves. México. II Congreso Nacional de Nutrición Animal.

MAN, D. Shelf life, (2005) Food industry Briefing series. London, UK: (ed.)

MARTINEZ, O. (2004) Feria de la industria alimentaria. Segundo congreso internacional alimentario "la estabilidad como presente y futuro de la industria de alimentos". Medellín. Antioquia.

MEJIA, Liliana M. *et a. (*2006) CAMBIOS FISICOS, QUIMICOS Y SENSORIALES DURANTE EL ALMACENAMIENTO CONGELADO DE PULPA DE ARAZA. Agronomía Colombiana.

MENCHU, R. (2005) Determinacion de la vida de anaquel de carne fresca de cerdo empacada en atmosfera modificada. Universidad de San Carlos, Guatemala.

MENENDEZ, G. (2006) Aplicación del diseño de experimentos en la formulación de cementos compuestos. Tesis MSc. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

MIRANDA, A. (2005) Influencia de la temperatura, el envase y la atmosfera en la conservación de uvas pasas y albaricoques deshidratados. Universidad de Valencia. España. Servei de Publicacions.

MONTGOMERY, D. (2008) Diseño y Análisis de Experimentos. Universidad Estatal de Arizona. Editorial Limusa.

NISSUI Pharmaceutical CO.LTD, (s.a.p.) Simple and Easy Dry Media for Microbial Count and Detection Compact Dry'' Japan http://www.tales.com.tr/images/resim/924375978CompactDry.pdf

POJOTA, S. (2011) Evaluación de acidificante orgánico en la crianza de pollos Broiler en la provincia de Pichincha. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente. Universidad Estatal de Bolívar.

SANCHO, J. BOTA, E. Y DE CASTRO, J. (2004) Introducción al análisis sensorial de los alimentos, Barcelona: Edición Universidad de Barcelona.

SIMON, M. Frohnsdorff, G. (s.a.p.) Advances in concrete mixture optimization. Proc. Concrete Durability and Repair Technology Conference. University of Dundee,Scotland, UK. Thomas Telford Publishing, London.

LÓPEZ, R. Y CASP, A. (2004) Tecnología de Mataderos. Editorial Mundi-Prensa S.A. México.

VANDERZANT, C. Y SPLITTSTOESSER, D. (2002) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food, 3ra Edición. American Public Health Association: Washington.

3M ™ Petrifilm ™, Placas para Recuento de Coliformes, Guia de interpretacion, pdf, Editorial 3M Espana, S.A. Espana. http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat.workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf.

ANEXOS.

Anexo 1. Ficha técnica ácido cítrico.

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT-80
FD-17 - Versión N°7	Fecha: 2014-03-18	Aprobado por: LSV

Versión: 6 Fecha de aprobación de ficha técnica: 2014-11-14

IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO			
Nombre	ACIDO CITRICO	Referencia	N/A
Ingredientes	Acido cítrico (330)		

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

CARACTERÍSTICAS	ESPECIFICACION	METODO
ASPECTO	Cristales translucidos	EO-CC-11. Basado en NTC 2680
COLOR APARENTE	Blanco cristal	EO-CC-12. Basado en NTC 4604
SABOR	Fuertemente ácido	EO-CC-14; Basado en NTC 2680

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	ESPECIFICACION	METODO
CONCENTRACION	%	Mínimo 99,5	EO-CC-16. Basado en NTC 440
PÉRDIDAS POR SECADO	%	Máximo 0,5	EO-CC-19. Basado en NTC 529
GRANULOMETRIA (RET. U.S. Malla 30)	%	Máximo 5,0	EO-CC-20. Basado en NTC 77
CENIZAS SULFATADAS	%	Máximo 0.05	N/D
SULFATOS	ppm	Máximo 150	N/D
PLOMO	ppm	Máximo 0,5	N/D
OXALATOS	ppm	Máximo 100	N/D

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y ENTOMOLÓGICAS

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	ESPECIFICACION	METODO
N/A	N/A	N/A	N/A

CARACTERÍSTICAS A EVALUAR

Aspecto, color aparente, sabor, concentración y pérdidas por secado

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagui - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT-80
FD-17 - Versión N°7	Fecha: 2014-03-18	Aprobado por: LSV

Versión: 8 Fecha de aprobación de ficha técnica: 2014-11-14

CONDICIONES DE EMPAQUE Y EMBALAJE	
Presentación comercial y material de empaque	1,0 kg en bolsa polipropileno biorientado/ foil de aluminio / polietileno de baja densidad de 70 µm, luego se embalan en varias unidades en saco de polipropileno. 25 kg en saco de polipropileno. Puede empacarse en otra cantidad requerida por el cliente, en un empaque que garantice su conservación (sujeto a negociación).
Vida útil*	Este producto debe consumirse preferiblemente antes de 12 meses.
** A partir de la fecha de empaque, siempre y cuando se someta a los requisitos de conservación, almacenamiento y transporte recomendados*	

CONSUMIDORES POTENCIALES
Industria de alimentos en general

FORMA DE CONSUMO E INSTRUCCIONES ESPECIALES DE MANEJO	
Dosis recomendada	De acuerdo al nivel de acidez deseado en el producto terminado
Forma de aplicación	Aplicar con los demás ingredientes y mezclar
Precauciones	Evitar contacto con ojos y mucosas

RECOMENDACIONES DE CONSERVACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE
Debe almacenarse sobre plataformas elevadas del piso, en bodegas cubiertas, en ambientes frescos y secos, con buena ventilación y a temperatura ambiente. En las bodegas de almacenamiento se debe contar con un plan integral de control de plagas, limpieza y buenas prácticas de manufactura. Una vez se abra el empaque, para emplear una parte, se debe cerrar inmediatamente para evitar la exposición a la humedad del ambiente. Este producto se debe transportar en vehículos limpios, se debe colocar sobre estibas, nunca sobre el piso del vehículo, no se debe transportar con sustancias tóxicas, químicos o animales.

REQUISITOS LEGALES Y NORMAS TECNICAS APLICABLES AL PRODUCTO
R 4124/1991, R2606/2009, R4126/1991, JECFA 2006

ALERGENOS
No contiene alergenos. Este producto es reempacado en una planta donde se utilizan los siguientes productos y sus derivados: cereales que contienen gluten, crustáceos, huevos, pescado, maní, soya, leche, nueces de árboles y sulfito.

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagui - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Anexo 2. Ficha técnica ácido láctico.

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT-82

Versión: 6 Fecha de aprobación: 2014-02-12 FN-GD-17 / V-6 2013-12-11

IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO			
Nombre	ACIDO LACTICO	Referencia	N/A
Ingredientes	Acido Láctico (270)		

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS		
CARACTERÍSTICAS	**ESPECIFICACION**	**METODO**
ASPECTO	Liquido	EO-CC-11; Basado en NTC 2680
COLOR APARENTE	Incoloro a ligeramente amarillo	EO-CC-12; Basado en NTC 4604
OLOR	Ligeramente acido	EO-CC-13; Basado en NTC 2680
SABOR	Poco acido	EO-CC-14; Basado en NTC 2680

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS			
CARACTERÍSTICAS	**UNIDAD**	**ESPECIFICACION**	**METODO**
PUREZA ESTEREOQUÍMICA	%	Mínimo 95,0 L(+)	ND
CONCENTRACIÓN	%	84,5 – 88,5	ND
CLORUROS	ppm	Máximo 10,0	EO-CC-17; Basado en NTC 696.
DENSIDAD (a 20°C)	g/ml	1,190 – 1,220	EO-CC-22; Basado en NTC 67
METALES PESADOS (como Pb)	ppm	Máximo 10,0	ND
HIERRO	ppm	Máximo 10,0	ND
CALCIO	ppm	Máximo 10,0	ND
ARSÉNICO	ppm	Máximo 1,0	ND
CIANURO	ppm	Máximo 5,0	ND
MERCURIO	ppm	Máximo 1,0	ND
COLOR	Hazen	Máximo 50	ND

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y ENTOMOLÓGICAS			
CARACTERÍSTICAS	**UNIDAD**	**ESPECIFICACION**	**METODO**

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagui - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT-82

Versión: 6 Fecha de aprobación: 2014-02-12 FN-GD-17 / V-6 2013-12-11

N/A			

CARACTERÍSTICAS A EVALUAR
Aspecto, sabor, olor y concentración.

CONDICIONES DE EMPAQUE Y EMBALAJE	
Presentación comercial y material de empaque	1,0; 4,0 y 30 Kg en envase de Polietileno de alta densidad Nota: puede empacarse en otra cantidad requerida por el cliente, en un empaque que garantice su conservación (sujeto a negociación).
Vida útil*	Este producto debe consumirse preferiblemente antes de 12 meses.
** A partir de la fecha de empaque, siempre y cuando se someta a los requisitos de conservación, almacenamiento y transporte recomendados*	

CONSUMIDORES POTENCIALES
Industria de alimentos en general

FORMA DE CONSUMO E INSTRUCCIONES ESPECIALES DE MANEJO	
Dosis recomedada	Su dosificación depende del producto en el cual sea utilizado. Para ser usado como antimicrobiano se recomienda preparar soluciones al 2% y adicionar por aspersión.
Forma de aplicación	Por aspersión o en masa, dependiendo de la matriz donde se va a emplear.
Precauciones	Evitar contacto con ojos y mucosas

RECOMENDACIONES DE CONSERVACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE
Debe almacenarse sobre plataformas elevadas del piso, en bodegas cubiertas, en ambientes frescos y secos, con buena ventilación y a temperatura ambiente. En las bodegas de almacenamiento se debe contar con un plan integral de control de plagas, limpieza y buenas prácticas de manufactura. Una vez se abra el empaque, para emplear una parte, se debe cerrar inmediatamente para evitar la exposición a la humedad del ambiente. Este producto se debe transportar en vehículos limpios, se debe colocar sobre estibas, nunca sobre el piso del vehículo, no se debe transportar con sustancias tóxicas, químicos o animales.

REQUISITOS LEGALES Y NORMAS TECNICAS APLICABLES AL PRODUCTO
R2606/2009; R 4126/1991.
ALERGENOS

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagui - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT-82

Versión: 6 Fecha de aprobación: 2014-02-12 FN-GD-17 / V-6 2013-12-11

No contiene alergenos. Este producto es reempacado en una planta donde se utilizan los siguientes productos y sus derivados: cereales que contienen gluten, crustáceos, huevos, pescado, maní, soya, leche, nueces de árboles y sulfito.

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagui - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Anexo 3. Ficha técnica ácido acético.

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT- 81

Versión: 4 Fecha de aprobación: 2014-01-22 FN-GD-17 / V-8 2013-12-11

IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO			
Nombre	ACIDO ACÉTICO	Referencia	N/A
Ingredientes	Ácido acético natural (260)		

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

CARACTERÍSTICAS	ESPECIFICACIÓN	MÉTODO
ASPECTO	Líquido	EO-CC-11. Basado en NTC 2680
COLOR APARENTE	Incoloro	EO-CC-12. Basado en NTC 4604
OLOR	Característico	EO-CC-13; Basado en NTC 2680
SABOR	Fuertemente ácido	EO-CC-14; Basado en NTC 2680

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN	MÉTODO
CONCENTRACIÓN	%	Mínimo 99,5	EO-CC-16. Basado en NTC 440
GRAVEDAD ESPECÍFICA (20/20°C)	N/A	1,049 - 1,055	EO-CC-21. Basado en NTC 66
PUNTO DE SOLIDIFICACIÓN	°C	Mínimo 14,6	N/D
SULFATOS	N/A	Negativo	N/D
CLORUROS	N/A	Negativo	EO-CC-17. Basado en NTC 696.
METALES PESADOS COMO Pb	ppm	Máximo 5,0	N/D

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y ENTOMOLÓGICAS

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN	MÉTODO
N/A	N/A	N/A	N/A

CARACTERÍSTICAS A EVALUAR

Aspecto, color, olor y concentración.

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagüí - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Tecnas Socios en su progreso.	FICHA TECNICA DE PRODUCTO TERMINADO	PT- 81

Versión: 4 Fecha de aprobación: 2014-01-22 FN-GD-17 / V-8 2013-12-11

CONDICIONES DE EMPAQUE Y EMBALAJE	
Presentación comercial y material de empaque	1,0 kg en bolsa polipropileno biorientado/ foil de aluminio / polietileno de baja densidad de 70 µm, luego se embalan en varias unidades en saco de polipropileno. Puede empacarse en otra cantidad requerida por el cliente, en un empaque que garantice su conservación (sujeto a negociación).
Vida útil*	Este producto debe consumirse preferiblemente antes de 12 meses a partir de la fecha de empaque.
** A partir de la fecha de empaque, siempre y cuando se someta a los requisitos de conservación, almacenamiento y transporte recomendados.*	

CONSUMIDORES POTENCIALES
Industria de alimentos en general

FORMA DE CONSUMO E INSTRUCCIONES ESPECIALES DE MANEJO	
Dosis recomendada	De acuerdo al nivel de acidez deseado en el producto terminado
Forma de aplicación	Directa en el producto
Precauciones	Evitar contacto con ojos, mucosas y piel. No debe ser inhalado. Manipular con elemnetos de protección respiratoria, guantes, delantal y gafas.

RECOMENDACIONES DE CONSERVACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE
El ÁCIDO ACÉTICO es un producto corrosivo e inflamable, se debe manejar con elementos de seguridad. Almacenar sobre plataformas elevadas del piso, en bodegas cubiertas, en ambientes secos, con buena ventilación y a temperatura ambiente. En las bodegas de almacenamiento se debe contar con un plan integral de control de plagas, limpieza y buenas prácticas de manufactura. Una vez se abra el empaque, para emplear una parte, se debe cerrar inmediatamente para evitar la exposición a la humedad del ambiente. Este producto se debe transportar en vehículos limpios, se debe colocar sobre estibas, nunca sobre el piso del vehículo, no se debe transportar con sustancias tóxicas, químicos o animales.

REQUISITOS LEGALES Y NORMAS TECNICAS APLICABLES AL PRODUCTO
R 4126/1991.

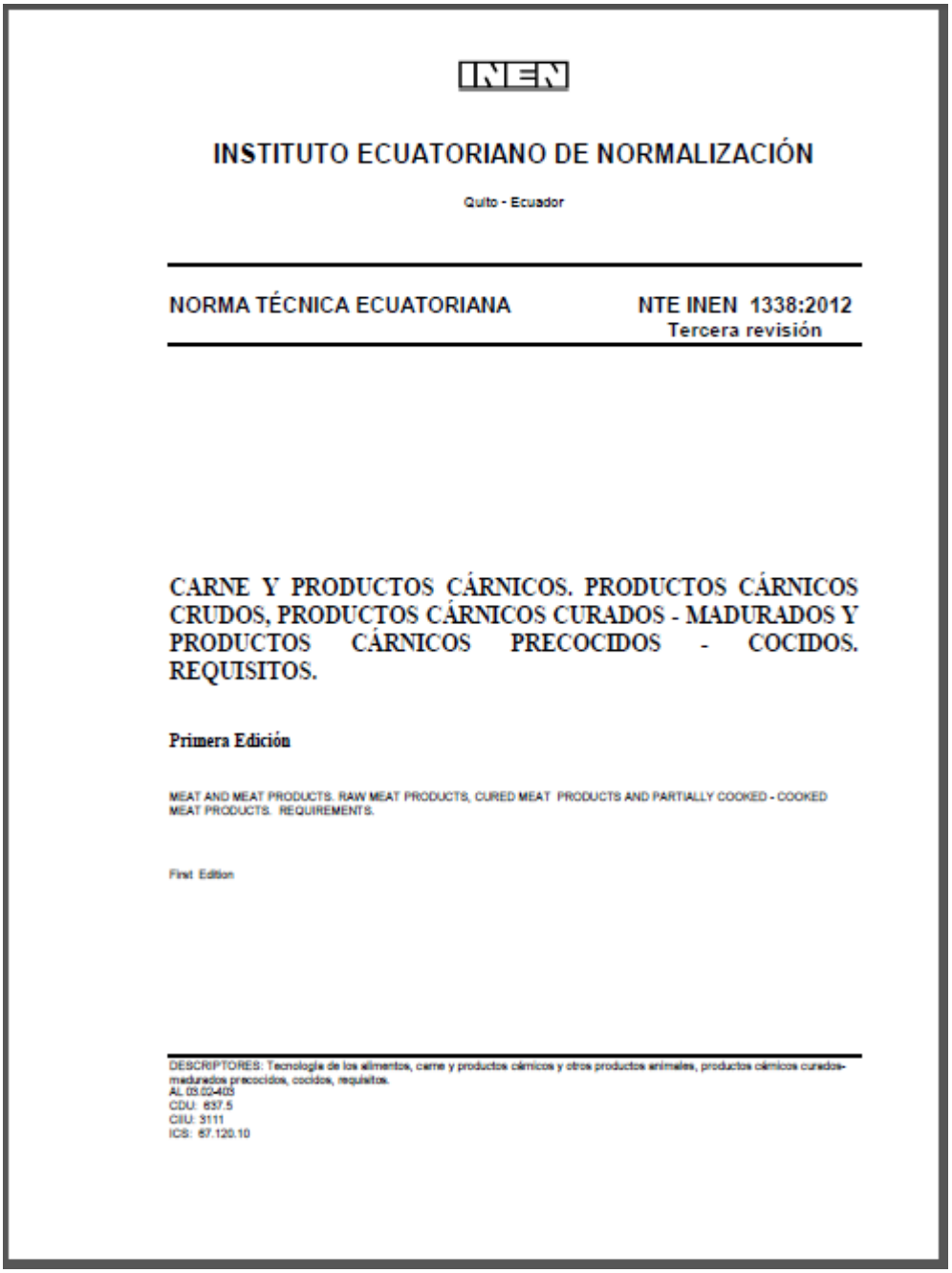
ALERGENOS
No contiene alergenos. Este producto es reempacado en una planta donde se utilizan los siguientes productos y sus derivados: cereales que contienen gluten, crustáceos, huevos, pescado, maní, soya, leche, nueces de árboles y sulfito.

REVISADO Y APROBADO POR DIRECTORA DE PROYECTOS

TECNAS S.A. web: www.tecnas.com.co
e-mail: servicioalcliente@tecnas.com.co
Itagüí - Colombia

Cra 50G No. 12 sur – 29, A.A. 51040
Teléfonos: (57)(4) 2854290- 2858290
Fax: (57)(4) 2553809

Anexo 4. Norma técnica Ecuatoriana INEN 1 338:2012.



INEN

INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA — NTE INEN 1338:2012
Tercera revisión

CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. PRODUCTOS CÁRNICOS CRUDOS, PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS - MADURADOS Y PRODUCTOS CÁRNICOS PRECOCIDOS - COCIDOS. REQUISITOS.

Primera Edición

MEAT AND MEAT PRODUCTS. RAW MEAT PRODUCTS, CURED MEAT PRODUCTS AND PARTIALLY COOKED - COOKED MEAT PRODUCTS. REQUIREMENTS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, carne y productos cárnicos y otros productos animales, productos cárnicos curados-madurados precocidos, cocidos, requisitos.
AL 03.02-405
CDU: 637.5
CIIU: 3111
ICS: 67.120.10

CDU: 637.5
ICS: 67.120.10

INEN

CIIU: 3111
AL: 03.02-403

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. PRODUCTOS CÁRNICOS CRUDOS, PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS - MADURADOS Y PRODUCTOS CÁRNICOS PRECOCIDOS - COCIDOS. REQUISITOS.	NTE INEN 1338:2012 Tercera revisión 2012-04

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir los productos cárnicos crudos, los productos cárnicos curados - madurados y los productos cárnicos precocidos - cocidos a nivel de expendio y consumo final.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a los productos cárnicos crudos, los productos cárnicos curados - madurados y los productos cárnicos precocidos - cocidos.

2.2 Esta norma no aplica a los productos a base de pescado, mariscos o crustáceos crudos y alimento sucedáneos de cárnicos.

3. DEFINICIONES

3.1 Para efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 1217, NTE INEN 2346, además las siguientes:

3.1.1 *Producto cárnico procesado.* Es el producto elaborado a base de carne, grasa, vísceras u otros subproductos de origen animal comestibles, con adición o no de sustancias permitidas, especias o ambas, sometido a procesos tecnológicos adecuados. Se considera que el producto cárnico está terminado cuando ha concluido con todas las etapas de procesamiento y está listo para la venta.

3.1.2 *Productos cárnicos crudos.* Son los productos que no han sido sometidos a ningún proceso tecnológico ni tratamiento térmico en su elaboración.

3.1.3 *Productos cárnicos curados - madurados.* Son los productos sometidos a la acción de sales curantes permitidas, madurados por fermentación o acidificación y que luego pueden ser cocidos, ahumados y/o secados.

3.1.4 *Productos cárnicos precocidos.* Son los productos sometidos a un tratamiento térmico superficial, previo a su consumo requiere tratamiento térmico completo; se los conoce también como parcialmente cocidos.

3.1.5 *Productos cárnicos cocidos.* Son los productos sometidos a tratamiento térmico que deben alcanzar como mínimo 70 ºC en su centro térmico o una relación tiempo temperatura equivalente que garantice la destrucción de microorganismos patógenos.

3.1.6 *Producto cárnico acidificado.* Son los productos cárnicos a los cuales se les ha adicionado un aditivo permitido o ácido orgánico para descender su pH.

3.1.7 *Producto cárnico ahumado.* Son los productos cárnicos expuestos al humo y/o adicionado de humo a fin de obtener olor, sabor y color propios.

3.1.8 *Producto cárnico rebozado y/o apanado.* Son los productos cárnicos recubiertos con ingredientes y aditivos de uso permitido.

3.1.9 *Producto cárnico congelado.* Son los productos cárnicos que se mantienen a una temperatura igual o inferior a -18 ºC.

3.1.10 *Producto cárnico refrigerado.* Son los productos cárnicos que se mantienen a una temperatura entre 0ºC – 4 ºC

3.1.11 *Productos cárnicos preformados.* Son mezclas de carnes, no emulsionadas, adicionadas de aditivos y otros ingredientes permitidos, a las que se les da una forma determinada por medio de moldeo.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, carne y productos cárnicos y otros productos animales, productos cárnicos curados-madurados precocidos, cocidos, requisitos.

3.1.12 *Productos cárnicos recubiertos.* Productos cárnicos a los que se les cubre con uno o más ingredientes permitidos. Por ejemplo: apanados, enharinados y otros.

3.1.13 *Jamón.* Producto cárnico, curado-madurado ó cocido ahumado o no, embutido, moldeado o prensado, elaborado con músculo sea este entero o troceado, con la adición de ingredientes y aditivos de uso permitido.

3.1.14 *Pasta de carne (paté).* Es el embutido cocido, de consistencia pastosa, ahumado o no, elaborado a base de carne emulsionada y/o vísceras, de animales de abasto mezclada o no y otros tejidos comestibles de estas especies, con ingredientes y aditivos permitidos.

3.1.15 *Tocineta (tocino o panceta).* Es el producto obtenido de la pared costo – abdominal o del tejido adiposo subcutáneo de porcinos, curado o no, cocido o no, ahumado o no.

3.1.16 *Salami o salame.* Es el embutido seco, curado, madurado o cocido, elaborado a base de carne y grasa de porcino y/o bovino, con ingredientes y aditivos permitidos.

3.1.17 *Salchichón.* Es el embutido seco, curado y/o madurado, elaborado a base de carne y grasa de porcino o con mezclas de animales de abasto con ingredientes y aditivos permitidos.

3.1.18 *Queso de cerdo (queso de chancho).* Es el producto cocido elaborado por una mezcla de carnes, orejas, hocico, cachetes de porcino, porciones gelatinosas de la cabeza y patas, con ingredientes y aditivos de uso permitido, prensado y/o embutido.

3.1.19 *Chorizo.* Es el producto elaborado con carne de animales de abasto, solas o en mezcla, con ingredientes y aditivos de uso permitido y embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, puede ser fresco (crudo), cocido, madurado, ahumado o no.

3.1.20 *Salchicha.* Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, crudas, cocidas, maduradas, ahumadas o no.

3.1.21 *Morcillas de sangre.* Es el producto cocido, elaborado a base de sangre de porcino y/o bovino, obtenida en condiciones higiénicas, desfibrinada y filtrada con o sin grasa y carne de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, ahumadas o no.

3.1.22 *Mortadela.* Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

3.1.23 *Pastel de carne.* Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; moldeados o embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

3.1.24 *Flambre.* Producto cárnico procesado, cocido, embutido, moldeado o prensado elaborado con carne de animales de abasto, picada u homogenizada o ambas, con la adición de sustancias de uso permitido.

3.1.25 *Hamburguesa.* Es la carne molida (o picada) de animales de abasto homogenizada y preformada, cruda o precocida y con ingredientes y aditivos de uso permitido.

3.1.26 *Aditivo alimentario.* Son sustancias o mezcla de sustancias de origen natural o artificial, de uso permitido que se agregan a los alimentos modificando directa o indirectamente sus características físicas, químicas y/o biológicas con el fin de preservarlos, estabilizarlos o mejorar sus características organolépticas sin alterar su naturaleza y valor nutritivo.

3.1.27 *Especias.* Producto constituido por ciertas plantas o partes de ellas que por tener sustancias saborizantes o aromatizantes se emplean para aderezar, aliñar o modificar el aroma y sabor de los alimentos.

(Continúa)

3.1.28 *Fermentación.* Conjunto de procesos bioquímicos y físicos inducidos por acción microbiana nativa o acción controlada de cultivos iniciadores basados en el descenso del pH, que tienen lugar en la fabricación de algunos productos cárnicos como método de conservación o para conferir características particulares al producto, en los cuales se controla la temperatura, humedad y ventilación, desarrollando el aroma, sabor, color y consistencia característicos.

3.1.29 *Maduración.* Conjunto de procesos bioquímicos y físicos que tienen lugar en la fabricación de algunos productos cárnicos crudos en los cuales se controla la temperatura, humedad y ventilación, desarrollando el aroma, sabor, consistencia y conservación característicos de estos productos.

3.1.30 *Cadena de frío.* Es una cadena de suministro de temperatura controlada. Una cadena de frío que se mantiene intacta garantiza a un consumidor que el producto de consumo que recibe durante la producción, transporte, almacenamiento y venta no se ha salido de un rango de temperaturas dada.

3.1.31 *Productos marinados neutros.* Productos cárnicos en su estado natural que han sido mejorados en sus características funcionales por el uso de una solución considerada como coadyuvante y que mantienen su condición natural para su uso previsto.

3.1.32 *Productos adobados.* Productos cárnicos en su estado natural a los que se les ha adicionado condimentos con el objeto de proporcionar o modificar características sensoriales para su uso previsto. Por adobado se entiende: condimentado, aliñado, saborizado, aderezado o con especias.

3.1.33 *Cortes enteros.* Son los cortes primarios y secundarios.

3.1.34 *Cortes primarios.* Los cortes primarios son los brazos, piernas, chuletero y costillar.

3.1.35 *Cortes secundarios.* Son los cortes con o sin hueso, obtenidos a partir de los cortes primarios, tales como: pulpas, salón, lomos, chuleta, etc.

3.1.36 *Carne.* Tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post rigor), comestible, sano y limpio, de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano. Además se considera carne el diafragma y músculos maceteros de cerdo, no así los demás subproductos de origen animal.

3.1.37 *Triming.* Es el producto obtenido del despiece del animal de abasto que contienen carne y grasa en diferente proporción y se utiliza en la elaboración de productos cárnicos

4. CLASIFICACIÓN

4.1 De acuerdo al contenido de proteína, estos productos se clasifican en:

4.1.1 TIPO I

4.1.2 TIPO II

4.1.3 TIPO III

6. DISPOSICIONES GENERALES

6.1 La materia prima refrigerada, que va a utilizarse en la manufactura, no debe tener una temperatura superior a los 7°C y la temperatura en la sala de d espiece no debe ser mayor de 14°C.

6.2 El agua empleada en la elaboración de los productos cárnicos (salmuera, hielo), en el enfriamiento de envases o productos, en los procesos de limpieza, debe cumplir con los requisitos de la NTE INEN 1108.

6.3 El proceso de fabricación de estos productos debe cumplir con el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud.

(Continúa)

TABLA 2. Requisitos bromatológicos para productos cárnicos cocidos

REQUISITO	TIPO I		TIPO II		TIPO III		MÉTODO DE ENSAYO
	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	
Proteína total, % (% N x 6,25)	12	-	10	-	8	-	NTE INEN 781
Proteína no cárnica %	-	2	-	4	-	6	No existe método de diferenciación; se verifica por la formulación declarada por el fabricante.

TABLA 3. Requisitos bromatológicos para jamones cocidos

REQUISITO	TIPO I		TIPO II		TIPO III		MÉTODO DE ENSAYO
	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	
Proteína total % (% N x 6,25)	13	-	12	-	11	-	NTE INEN 781
Proteína no cárnica %	-	2	-	3	-	4	No existe método de diferenciación; se verifica por la formulación declarada por el fabricante.

TABLA 4. Requisitos bromatológicos para cortes cárnicos ahumados al natural o con adición de humo líquido (considerando únicamente la fracción comestible); se exceptuan la costilla y la tocineta

REQUISITO	MÍN	MÁX	MÉTODO DE ENSAYO
Proteína total % (% N x 6,25)	14	-	NTE INEN 781

TABLA 5. Requisitos bromatológicos para el tocino y las costillas (considerando únicamente la fracción comestible)

REQUISITO	MÍN	MÁX	METODO DE ENSAYO
Proteína total % (% N x 6,25)	10	-	NTE INEN 781

TABLA 6. Requisitos bromatológicos para los productos cárnicos curados-madurados, (considerando únicamente la fracción comestible)

REQUISITO	MÍN	MÁX	MÉTODO DE ENSAYO
Proteína total % (% N x 6,25)	25	-	NTE INEN 781
- Productos cárnicos curados-madurados en cortes enteros			
- Productos cárnicos curados-madurados en base a carne picada embutida	14	-	

(Continúa)

TABLA 11. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos curados - madurados

REQUISITOS	n	c	m	M	MÉTODO DE ENSAYO
Staphylococcus aureus ufc/g *	5	1	$1,0x10^{7}$	$1,0x10^{7}$	NTE INEN 1529-14
Clostridium perfringens ufc/g *	5	1	$1,0x10^{3}$	$1,0x10^{4}$	NTE INEN 1529-18
Salmonella[1] /25g **	10	0	Ausencia	-	NTE INEN 1529-15

[1] Especies sero tipificadas como peligrosas para humanos
* Requisitos para determinar término de vida útil
** Requisitos para determinar inocuidad del producto

Donde:

n = número de unidades de la muestra
c = número de unidades defectuosas que se acepta
m = nivel de aceptación
M = nivel de rechazo

TABLA 12. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos precocidos congelados

REQUISITO	n	c	m	M	MÉTODO DE ENSAYO
Aerobios mesófilos ufc/g *	5	3	$1,0 \times 10^{6}$	$1,0 \times 10^{7}$	NTE INEN 1529-5
Escherichia coli ufc/g *	5	2	$1,0 \times 10^{2}$	$1,0 \times 10^{3}$	AOAC 991.14
Staphilococus aureus ufc/g *	5	2	$1,0 \times 10^{3}$	$1,0 \times 10^{4}$	NTE INEN 1529-14
Salmonella[1]/ 25 g **	5	0	Ausencia	—	NTE INEN 1529-15

[1] especies sero tipificadas como peligrosas para humanos
* Requisitos para determinar término de vida útil
** Requisitos para determinar inocuidad del producto

Donde:

n = número de unidades de la muestra
c = número de unidades defectuosas que se acepta
m = nivel de aceptación
M = nivel de rechazo

8.2 Requisitos complementarios

8.2.1 Las unidades de comercialización de este producto deben cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

8.2.2 La temperatura de almacenamiento de los productos terminados en los lugares de expendio debe estar entre 0°C y 4°C (refrigeración).

8.2.3 Los materiales empleados para envasar los productos deben ser grado alimentario aprobados para uso en este tipo de alimentos.

7. INSPECCIÓN

7.1 Muestreo

7.1.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 776.

7.1.2 La toma de muestras para el análisis microbiológico debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 1529-2.

(Continúa)

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 776	*Carne y productos cárnicos. Muestreo.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 781	*Carne y productos cárnicos. Determinación del nitrógeno.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108	*Agua potable. Requisitos.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 217	*Carne y productos cárnicos. Definiciones.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2	*Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5	*Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesofilos RÉP.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-14	*Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-15	*Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	*Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2346	*Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos.*
Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	*Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empacados.*
Ley 2007-76	*del Sistema Ecuatoriano de la Calidad Publicado en el Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22.*
Decreto Ejecutivo 3253	*Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados.*
Codex Alimentarius CAC/MRL 1-2001	*Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas*
Codex Alimentarius CAC/LMR 02-2005	*Lista de Límites Máximos para Residuos de Medicamentos Veterinarios*
Codex Stan 193-1995 (Rev.2-2006)	*Norma general del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos*
Método AOAC 991.14	*Coliform and Escherichia coil Coints in foods Dry Rehydratable Film Methods.*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Reglamento de Alimentos, Decreto Ejecutivo No. 4114 de 1988-07-13, publicado en el Registro Oficial No. 984 de 1988-07-22. Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito 1988.

Instituto Colombiano de Normalización, ICONTEC, NTC 1325 (quinta actualización). *Productos cárnicos procesados no enlatados. Requisitos*, Bogotá 2008.

Normas españolas,

Instituto Nacional de Normalización - INN Norma oficial chilena NCh2776.Of2002 *Longaniza, chorizo y choricillo – Requisitos*, Santiago de Chile 2003.

ICMSF Microorganisms in Foods 2. *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2nd Ed.* International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

Codex *Standard for luncheon meat* Codex Stan 89-1981 (Rev. 1 - 1991).

Norma del Codex *para la carne tipo "Corned beef"* Codex Stan 88-1981 (Rev. 1 - 1991).

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 776	*Carne y productos cárnicos. Muestreo.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 781	*Carne y productos cárnicos. Determinación del nitrógeno.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108	*Agua potable. Requisitos.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 217	*Carne y productos cárnicos. Definiciones.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2	*Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5	*Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesofilos REP.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-14	*Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-15	*Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	*Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2346	*Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos.*
Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	*Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empacados.*
Ley 2007-76	*del Sistema Ecuatoriano de la Calidad Publicado en el Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22.*
Decreto Ejecutivo 3253	*Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados.*
Codex Alimentarius CAC/MRL 1-2001	*Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas*
Codex Alimentarius CAC/LMR 02-2005	*Lista de Límites Máximos para Residuos de Medicamentos Veterinarios*
Codex Stan 193-1995 (Rev.2-2006)	*Norma general del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos*
Método AOAC 991.14	*Coliform and Escherichia coli Counts in foods Dry Rehydratable Film Methods.*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Reglamento de Alimentos, Decreto Ejecutivo No. 4114 de 1988-07-13, publicado en el Registro Oficial No. 984 de 1988-07-22. Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito 1988.

Instituto Colombiano de Normalización, ICONTEC, NTC 1325 (quinta actualización). *Productos cárnicos procesados no enlatados. Requisitos*, Bogotá 2008.

Normas españolas,

Instituto Nacional de Normalización - INN Norma oficial chilena NCh2776.Of2002 *Longaniza, chorizo y choricillo – Requisitos*, Santiago de Chile 2003.

ICMSF Microorganisms in Foods 2. *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2nd Ed.* International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

Codex *Standard for luncheon meat* Codex Stan 89-1981 (Rev. 1 - 1991).

Norma del Codex *para la carne tipo "Corned beef"* Codex Stan 88-1981 (Rev. 1 - 1991).

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 776	*Carne y productos cárnicos. Muestreo.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 781	*Carne y productos cárnicos. Determinación del nitrógeno.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1108	*Agua potable. Requisitos.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 217	*Carne y productos cárnicos. Definiciones.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2	*Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-5	*Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesofilos RÉP.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-14	*Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-15	*Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección.*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	*Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos*
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2346	*Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos.*
Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	*Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empacados.*
Ley 2007-76	*del Sistema Ecuatoriano de la Calidad Publicado en el Registro Oficial No. 26 de 2007-02-22.*
Decreto Ejecutivo 3253	*Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para Alimentos Procesados.*
Codex Alimentarius CAC/MRL 1-2001	*Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas*
Codex Alimentarius CAC/LMR 02-2005	*Lista de Límites Máximos para Residuos de Medicamentos Veterinarios*
Codex Stan 193-1995 (Rev.2-2006)	*Norma general del Codex para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos*
Método AOAC 991.14	*Coliform and Escherichia coli Coints in foods Dry Rehydratable Film Methods.*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Reglamento de Alimentos, Decreto Ejecutivo No. 4114 de 1988-07-13, publicado en el Registro Oficial No. 984 de 1988-07-22. Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito 1988.

Instituto Colombiano de Normalización, ICONTEC, NTC 1325 (quinta actualización). *Productos cárnicos procesados no enlatados. Requisitos*, Bogotá 2008.

Normas españolas,

Instituto Nacional de Normalización - INN Norma oficial chilena NCh2776.Of2002 *Longaniza, chorizo y chorizillo – Requisitos*, Santiago de Chile 2003.

ICMSF Microorganisms in Foods 2. *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2nd Ed.* International Commission on Microbiological Specifications for Foods.

Codex *Standard for luncheon meat* Codex Stan 89-1981 (Rev. 1 - 1991).

Norma del Codex *para la carne tipo "Corned beef"* Codex Stan 88-1981 (Rev. 1 - 1991).

Anexo 5. Ficha de cata.

ORDENAMIENTO.

Fecha: _____ Hora: _____

Nombre: _____

Indicacion: En esta prueba se procederá a catalogar las diferentes muestras expuestas; se aplicara los conocimientos adquiridos previamente(olor, sabor, textura, color), serán clasificados de la siguiente forma.

Se dara una calificación de 1 a 3 para cada aspecto a valorar.

- 1 Igual a bueno.
- 2 Igual a muy bueno.
- 3 Igual a excelente.

LONGANIZA	CODIGO	OLOR	SABOR	TEXTURA	COLOR
MUESTRA 1					
MUESTRA 2					
MUESTRA 3					

Observaciónes.

Muestra 1 _____

Muestra 2 _____

Muestra 3 _____